

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Tanja Dodoš

**Fitohemijska i morfološka diferencijacija
prirodnih populacija *Satureja montana*
L., *S. kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. i *S.*
subspicata Bartl. ex Vis. (Lamiaceae)**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Tanja Dodoš

**Phytochemical and morphological
differentiation of natural populations of
Satureja montana L., *S. kitaibelii* Wierzb.
ex Heuff. and *S. subspicata* Bartl. ex Vis.
(Lamiaceae)**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

KOMISIJA:

dr Petar D. Marin, redovni profesor
mentor

dr Nemanja Rajčević, docent
Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

dr Ljubodrag Vujisić, docent
Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet

dr Peđa Janačković, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

dr Violeta Slavkowska, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Datum odbrane:

Beograd,

Doktorska disertacija je urađena na:

Katedri za morfologiju i sistematiku biljaka, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Katedri za organsku hemiju, Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Doktorska disertacija je realizovana u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije br. 173029.

Izradom doktorske disertacije rukovodio je Prof. dr Petar D. Marin, redovni profesor Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, kome dugujem najveću zahvalnost na pruženoj šansi i na nesebičnoj podršci, korisnim savetima, otvorenosti i pristupačnosti u svim etapama izrade ove disertacije.

Posebno veliku zahvalnost dugujem dr Nemanji Rajčeviću, docentu Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, bez čije podrške, velike pomoći, saveta i kritika u svim etapama od sakupljanja materijala, preko analize do obrade rezultata, ne bih ni napisala ove redove.

Veliki doprinos za izradu ove disertacije, posebno iz oblasti hemijske analize, je i stručna pomoć dr Ljubodraga Vujisića, docenta Hemijskog fakulteta i drugih članova Centra za instrumentalnu analizu, Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Veliku zahvalost dugujem i Prof. dr Violeti Slavkovskoj, vanrednom profesoru Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na podršci i veoma korisnim savetima i kritikama prilikom pisanja teze.

Zahvalnost dugujem i Prof. dr Peđi Janačkoviću, vanrednom profesoru Biološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, na nesebičnoj podršci, korisnim savetima i pomoći u sakupljanju materijala.

Želim da se zahvalim i svim ostalim kolegama sa Katedre i Instituta koji su pomogli izradu ove disertacije, posebno Jelici Novaković, na korisnim savetima i pomoći u sakupljanju materijala.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici na podršci i razumevanju tokom celog života. Posebno mojim najdražima, Borisu i Olegu, koji su me podržavali i koji unose radost i sreću u sve što radim.

U Beogradu, 25.07.2018.

Tanja Dodoš

REZIME

Analizirana je morfološka i fitohemijska varijabilnost, kao i diferencijacija prirodnih populacija taksona roda *Satureja* (Lamiaceae) sa prostora Balkana. Morfološki karakteri su izmereni kod 366 individua iz 27 prirodnih populacija *S. montana* ssp. *montana*, *S. montana* ssp. *variegata*, *S. montana* ssp. *pisidica*, *S. kitaibelii*, *S. subspicata* ssp. *subspicata*, *S. subspicata* ssp. *liburnica*. Proučavano je 12 morfoloških karaktera (šest karaktera lista i šest čašice). Karakteri čašice su pokazali mnogo manju intrapopulacionu varijabilnost i bolje su odslikavali razlike između taksona, naročito podvrsta unutar vrste *S. subspicata*. Primenjene univarijante i multivarijantne statističke metode su pokazale različite stepene diferencijacije na različitim nivoima u zavisnosti od vrste. Diferencijacije populacija je pokazana kod *S. kitaibelii* i delimično kod *S. subspicata*. Dve podvrste *S. subspicata* se na osnovu morfoloških karaktera jasno odvajaju. U slučaju *S. montana* nisu uočene diferencijacije, ni na jednom nivou, zbog velike intrapopulacione varijabilnosti. Uočene su korelacije morfoloških karaktera i pojedinih bioklimatskih parametara, uglavnom vezanih za temperaturu i padavine. Takođe, kod *S. subspicata* postoji i pozitivna korelacija između morfoloških karaktera i geografskog regiona, što nije bio slučaj kod druge dve vrste.

Određen je sastav i relativni udeo komponenti površinskih flavonoida izolovanih sa celih listova kod 108 individua iz 25 prirodnih populacija sa Balkana. Detektovano je 11, a identifikovano 10 jedinjenja. Kod populacija *S. subspicata* ssp. *subspicata* je bilo prisutno svih 11 jedinjenja, dok je u zavisnosti od populacije broj jedinjenja kod druge dve vrste varirao 5-10 (*S. montana*) i 7-10 (*S. kitaibelii*). U profilu *S. montana* u većini slučajeva dominiraju 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon i cirzimaritin, kod *S. kitaibelii* ksantomikrol i cirzimaritin, a unutar *S. subspicata* ksantomikrol i cirzimaritin (ssp. *liburnica*), odnosno ksantomikrol i 8-metoksicirzilneol (ssp. *subspicata*). Udeo ksantomikrola je najveći kod populacija *S. subspicata* ssp. *liburnica* (skoro 60 %). Površinski flavonoidi, analizirani statističkim metodama, na celom setu podataka, pokazuju diferencijaciju između vrsta, uključujući i podvrste. Najviše se odvaja tipska podvrsta *S. subspicata* od svih ostalih taksona. Iako podvrsta *S. montana* ssp. *montana* pokazuje najveću varijabilnost, kontinentalne populacije ove podvrste se preklapaju sa populacijama *S. kitaibelii* s jedne, dok se primorske preklapaju sa populacijama *S. montana* ssp. *variegata*, s druge strane. Populacije *S. subspicata* ssp. *liburnica* se po sastavu flavonoida nalaze između ovih primorskih i kontinentalnih populacija. Uočena je korelacija sastava

površinskih flavonoida i geografske distribucije populacija, jaka kod *S. subspicata* i *S. kitaibelii*, a slaba kod *S. montana*.

Relativni udeo pojedinačnih *n*-alkana u epikutikularnim voskovima određen je kod 316 individua iz 26 prirodnih populacija. U svim uzorcima su bili prisutni alkani u nizu od 19 do 35 ugljenikovih atoma. Postoji razlika u profilima između vrsta na osnovu dominantnih komponenti. Kod *S. kitaibelii* je dominantna komponenta C_{31} pa sledi C_{33} , dok su kod *S. montana* i *S. subspicata* to C_{29} i C_{31} . Međutim, ove dve vrste se razlikuju po relativnom udelu dominantnih komponenti u profilu alkana: kod *S. montana* udeo C_{29} je bio između 25,5 i 41,5 % a udeo C_{31} između 28,4 i 46,3 %, a kod *S. subspicata* udeo C_{29} je bio između 41,0 i 66,1 % a udeo C_{31} između 18,7 i 41,5%. Univarijante i multivarijante statističke analize su pokazale diferencijaciju populacija kod *S. kitaibelii*, a podvrsta kod *S. subspicata*. Međutim, zbog velike varijabilnosti populacija unutar vrste *S. montana* na osnovu profila alkana se ne mogu razlikovati podvrste. Generalno, najviše su diferencirane vrste *S. kitaibelii* i *S. subspicata*, posebno podvrsta *S. subspicata* ssp. *subspicata*. Utvrđena je korelacija dva alkana sa bioklimatskim podacima (temperaturom) kod *S. montana*, dok je kod *S. kitaibelii* više bioklimatskih parametara i nadmorska visina bilo u korelaciji sa većim brojem alkana. Za razliku od njih, kod *S. subspicata* je uočena blaga korelacija alkana i nadmorske visine, jaka korelacija sa ekspozicijom i geografskim regionom.

Sastav etarskog ulja, izolovanog iz nadzemnog dela, određen je kod 333 individue iz 23 prirodne populacije. Identifikovano je preko 150 jedinjenja, najviše u etarskom ulju *S. subspicata* (146) a najmanje u ulju *S. kitaibelii* (100). Monoterpeni su dominantna grupa kod *S. montana* (69,8 – 86,9 %) i *S. kitaibelii* (52,1 – 84,6 %), dok su kod *S. subspicata* to bili seskviterpeni (50,4 – 68,8 %) kod većine populacija. U profilu etarskog ulja od monoterpena dominiraju oksidovani kod *S. montana* (23,5 – 62,0 %) i *S. kitaibelii* (31,1 – 52,4 %). Seskviterpenski ugljovodonici, od seskviterpena, su bili najzastupljenija grupa u sastavu etarskog ulja kod većine populacija *S. subspicata* (13,8 – 48,1 %). Profilom etarskog ulja kod jedinki *S. montana* dominirala su tri monoterpena (*p*-cimen, karvakrol i timol), uz izuzetak populacije Gacko (linalol), kod *S. kitaibelii* je najzastupljeniji bio limonen kod većine jedinki. Sastav etarskog ulja *S. subspicata* se odlikovao većim brojem dominantnih komponenti, kod svih populacija bar jedna od glavnih komponenti je bila (*E*)-kariofilen, kariofilen oksid ili α -pinen. Uočena je diferencijacija proučavanih vrsta na osnovu profila etarskog ulja. Najviše se međusobno odvajaju *S. montana* i *S. subspicata*. Takođe, primećena

je korelacija distribucije vrsta i sastava etarskog ulja. Vrste sa jako do umereno fragmentisanim arealima (*S. kitaibelii* i *S. subspicata*) pokazuju manju varijabilnost sastava etarskog ulja u okviru populacija i veću diferenciranost populacija u odnosu na vrstu sa gotovo kontinuiranim arealom (*S. montana*). Međutim, kod *S. montana* su uočena tri do četiri hemotipa u zavisnosti od korišćene statističke metode, bez obzira na njenu veliku varijabilnost sastava etarskog ulja.

Uticaj genetičkih faktora na morfološke i fitohemijske karaktere analiziran je kod populacija *S. montana* i *S. subspicata* koje žive u simpatriji. Pokazano je da se jedinke jasno razdvajaju po pripadnosti vrsti na svim analiziranim karakteristikama (morfološkim karakteristikama, kao i po sastavu flavonoida, alkana i etarskih ulja).

Fitohemijski i morfološki karakteri, analizirani u ovom radu, su pokazali različite stepene diferencijacije proučavanih taksona. Morfološki karakteri, posebno oni vezani za čašicu, bili su informativniji kod vrsta koje imaju manje areale *S. kitaibelii* i *S. subspicata*. Analize profila alkana su pokazale diferencijaciju vrsta. Međutim, fitohemijski karakteri koji su pokazali najveću infraspecijsku, intra- i interpopulacionu diferencijaciju proučavanih vrsta su sastav flavonoida i etarskih ulja, posebno kod *S. subspicata*. Uporedne analize svih taksona i svih fitohemijskih i morfoloških karakterata su pokazale veću diferencijaciju unutar *S. subspicata* nego između *S. montana* i *S. kitaibelii*, što je u saglasnosti sa dosadašnjim analizama koje su ukazivale na sestrinski odnos *S. montana* i *S. kitaibelii* i potencijalno na njihovo skorije razdvajanje.

Gljučne reči: *Satureja montana*, *S. kitaibelii*, *S. subspicata*, Lamiaceae, morfološki karakteri, površinski flavonoidi, *n*-alkani, etarska ulja.

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Morfologija, fitohemija i sistematika biljaka

ABSTRACT

This thesis deals with morphological and phytochemical variability and differentiation of natural populations of taxa belonging to genus *Satureja* L. (Lamiaceae) (*S. montana* ssp. *montana*, *S. montana* ssp. *variegata*, *S. montana* ssp. *pisidica*, *S. kitaibelii*, *S. subspicata* ssp. *subspicata* and *S. subspicata* ssp. *liburnica*) from the Balkans. Morphological characters were measured in 366 individuals from 27 natural populations of selected taxa. In total 12 morphological characters were studied (six leaf and six calyx characters). Calyx characters varied less at the intrapopulation level and better reflected differences between the taxa, particularly between *S. subspicata* subspecies. Applied statistical methods (univariate and multivariate) showed diverse differentiation levels depending on the species studied. The separation between populations was observed in *S. kitaibelii* (complete) and in *S. subspicata* (partial). However, two *S. subspicata* subspecies were clearly differentiated. In the case of *S. montana* due to the high intrapopulation variability, no separation was found. Correlations between some of the morphological characters and some of the bioclimate parameters mostly related to temperature and precipitation were observed. Positive correlation between the morphological characters and the geographic region was shown only in *S. subspicata*.

The surface flavonoids composition has been determined by HPLC and LC-MS analysis in 108 individuals from 25 natural populations. In total, 11 compounds were detected and 10 identified. All of them were present in *S. subspicata* ssp. *subspicata*, while in other two species number of compounds varied depending on the population studied (5-10 compounds in *S. montana* and 7-10 in *S. kitaibelii*). Surface flavonoids profile of *S. montana*, in most cases, was dominated by 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavone and cirsimaritin, while xanthomicrol and cirsimaritin dominated profiles of *S. kitaibelii* and *S. subspicata* ssp. *liburnica*. In *S. subspicata* ssp. *subspicata* xanthomicrol and 8-methoxycirsilineol were dominant. Xanthomicrol percentage was the highest in the *S. subspicata* ssp. *liburnica* (almost 60%). Flavonoids analyzed by statistical methods, in the whole dataset, showed differentiation among species including subspecies, particularly *S. subspicata* ssp. *subspicata*. Although, *S. montana* ssp. *montana* showed the highest variability of flavonoid composition, based on composition, continental populations of this subspecies overlap with *S. kitaibelii* populations, on one side, while coastal populations overlap with *S. montana* ssp. *variegata* populations, on the other. *S. subspicata* ssp. *liburnica* populations, based on flavonoid composition, were between those coastal and continental populations. Also, data showed a

correlation between flavonoid composition and populations' geographical distribution – strong for *S. subspicata* and *S. kitaibelii* populations, and weak for *S. montana*.

The composition of the epicuticular leaf *n*-alkanes has been determined by GC-FID and GC/MS analysis in 316 individuals from 26 natural populations. The chain length of detected and identified *n*-alkanes ranged from C₁₉ to C₃₅. *n*-Alkane profile showed differences among studied taxa. Hentriacontane (C₃₁) followed by tritriacontane (C₃₃) were dominant in *S. kitaibelii*, whereas nonacosane (C₂₉) and hentriacontane (C₃₁) were dominant in *S. montana* and *S. subspicata*. However, these two species differentiate based on the relative proportion of dominant compounds in *n*-alkane profiles. In *S. montana* C₂₉ ranged from 25.5 to 41.5 % and C₃₁ from 28.4 to 46.3 %, while in *S. subspicata* C₂₉ proportion was much higher ranging from 41.0 to 66.1 % and C₃₁ from 18.7 to 41.5 %. Univariate and multivariate statistical analysis had shown population and subspecies differentiation, in *S. kitaibelii* and *S. subspicata*, respectively. Due to high intrapopulation variability found in *S. montana*, no subspecies differentiation was observed. Generally, based on the *n*-alkane profile, *S. kitaibelii* and *S. subspicata* were the most differentiated, particularly *S. subspicata* ssp. *subspicata*. Correlation between *n*-alkanes and bioclimatic parameters was found in *S. montana* (two alkanes and temperature) and in *S. kitaibelii* (several alkanes and bioclimatic parameters and altitude). Unlike previous species in *S. subspicata* correlation between alkanes and altitude was weak, while it was strong for exposition and geographic region.

Essential oil composition, extracted from the areal parts was determined by GC-FID and GC/MS analysis in 333 individuals from 23 natural populations. In the essential oil composition, little over 150 compounds were detected and the largest number of compounds were found in *S. subspicata* (146) and the smallest was in *S. kitaibelii* populations (100). Monoterpenes dominated essential oil composition in *S. montana* (69.8 – 86.9 %) and *S. kitaibelii* (52.1 – 84.6 %), whereas in most *S. subspicata* populations sesquiterpenes were dominant (50.4 – 68.8 %). In both *S. montana* and *S. kitaibelii* oxygenated monoterpenes represented 23.5 – 62.0 % and 31.1 – 52.4 %, respectively. Sesquiterpene hydrocarbons represented 13.8 to 48.1 % of the total oil, were the dominant type found in essential oil from most *S. subspicata* populations. Three monoterpenes, *p*-cymene, carvacrol and thymol, dominated *S. montana* essential oil profile, with exception of population Gacko (linalool dominated). Although limonene was present in all *S. kitaibelii* individuals in higher percentage, it was not a dominant component in all populations. *S. subspicata* essential oil composition was characterized by a larger number of dominant components in all samples,

with at least one of them being (*E*)-caryophyllene, caryophyllene oxide and/or α -pinene. Studied taxa could be differentiated based on the essential oil composition. The highest separation was observed between species *S. montana* and *S. subspicata*. Also, the essential oil profile and geographical distribution of taxa was correlated. Species with highly to moderately fragmented distribution (*S. kitaibelii* and *S. subspicata*) showed less variable essential oil composition, compared to the species with almost continuous range (*S. montana*). However, regardless of the very variable essential oil composition found in *S. montana*, three to four chemotypes could be differentiated, depending on the statistical methods used.

Influence of genetic factors on morphological and phytochemical characters was analyzed in four sympatric *S. montana* and *S. subspicata* populations. Individuals from these populations were clearly separated on all of the studied characters according to species to which they belong.

Analyzed phytochemical and morphological characters demonstrated different levels of taxa differentiation. Morphological characters, particularly those related to calyx were more useful at differentiation of populations and subspecies in taxa with smaller ranges (i.e. *S. kitaibelii* and *S. subspicata*). *n*-Alkane profiles showed species differentiation with a lower resolution than the other two phytochemical markers. Surface flavonoids and essential oils composition showed the highest intra- and interpopulation differentiation of the studied taxa, particularly in *S. subspicata*. Comparative analysis of all studied taxa and all phytochemical and morphological characters showed higher differentiation between *S. subspicata* subspecies than between *S. montana* and *S. kitaibelii*, which is in concordance with previously available data that suggested sister relation of two species and potentially their more recent separation.

Keywords: *Satureja montana*, *S. kitaibelii*, *S. subspicata*, Lamiaceae, morphological characters, surface flavonoids, *n*-alkanes, essential oils.

Scientific field: Biology

Specific scientific field: Plant morphology, phytochemistry and systematics

Sadržaj

1 Uvod	1
1.1. Lamiaceae	1
1.1.1. Nepetoideae	3
1.1.2. Satureieae	4
1.1.3. <i>Satureja</i> kompleks	4
1.1.4. Istraživanja posljednjih pedeset godina	7
1.1.5. Rod <i>Satureja</i> L.	12
1.1.6. <i>Satureja montana</i> L.	13
1.1.7. <i>Satureja kitaibelii</i> Wierzb. ex Heuff.	20
1.1.8. <i>Satureja subspicata</i> Bartl. ex Vis.	23
1.2. Flavonoidi	28
1.2.1 Flavoni i flavanoni	29
1.2.2. Biološka uloga flavona i flavanona	30
1.2.3. Biosinteza flavonoida (flavanona i flavona)	32
1.2.4. Kontrola biosinteze flavonoida	35
1.2.5. Dosadašnja istraživanja flavonoida	36
1.2.6. Varijabilnost i upotreba flavonoida u taksonomskim istraživanjima	37
1.2.7. Dosadašnja istraživanja flavonoida kod vrsta roda <i>Satureja</i>	39
1.3. Alkani	40
1.3.1 Epikutikularni voskovi	40
1.3.2. Biološka uloga epikutikularnih voskova	42
1.3.3. Biosinteza epikutikularnih voskova	44
1.3.4. Kontrola biosinteze alkana	47
1.3.5. Dosadašnja istraživanja alkana	48
1.3.6. Varijabilnost i alkana i njihov značaj u taksonomskim istraživanjima	49
1.3.7. Dosadašnja istraživanja alkana kod roda <i>Satureja</i>	51
1.4. Terpeni	52
1.4.1. Etarska ulja	52
1.4.2. Biološka uloga etarskih ulja	54
1.4.3. Biosinteza terpena	57
1.4.4. Kontrola biosinteze terpena	61
1.4.5. Dosadašnja istraživanja terpena	63
1.4.6. Varijabilnost etarskih ulja i njihov značaj u taksonomskim istraživanjima	64
1.4.7. Dosadašnja istraživanja etarskih ulja kod vrsta roda <i>Satureja</i>	66
2 Ciljevi doktorske disertacije	68

3 Materijal i metode.....	71
3.1. Prikupljanje biljnog materijala	71
3.2. Morfometrija	75
3.3. Fitohemijski markeri	76
3.3.1. Izolovanje površinskih flavonoida (aglikona)	76
3.3.2. HPLC analiza flavonoida	76
3.3.3. Izolovanje <i>n</i> -alkana	76
3.3.4. Izolovanje etarskog ulja	77
3.3.5. GC-MS analiza etarskog ulja i alkana	77
3.4. Statistička obrada	78
 4. Rezultati.....	 82
4.1. Morfometrija	82
4.1.1. Varijabilnost morfoloških karaktera <i>Satureja montana</i>	82
4.1.2. Varijabilnost morfoloških karaktera <i>Satureja kitaibelii</i>	97
4.1.3. Varijabilnost morfoloških karaktera <i>Satureja subspicata</i>	105
4.1.4. Diferencijacija simpatrijskih populacija na osnovu morfoloških karaktera	118
4.1.5. Diferencijacija proučavanih taksona pomoću morfoloških karaktera	125
4.2. Flavonoidi	137
4.2.1. Sastav flavonoida kod proučavanih vrsta roda <i>Satureja</i>	137
4.2.2. Varijabilnost površinskih flavonoida kod <i>Satureja montana</i>	139
4.2.3. Varijabilnost površinskih flavonoida kod <i>Satureja kitaibelii</i>	152
4.2.4. Varijabilnost površinskih flavonoida kod <i>Satureja subspicata</i>	158
4.2.5. Diferencijacija simpatrijskih populacija vrsta <i>S. montana</i> i <i>S. subspicata</i> na osnovu površinskih flavonoida	169
4.2.6. Diferencijacija svih proučavanih taksona na osnovu površinskih flavonoida	175
4.3. <i>n</i> -Alkani	185
4.3.1. Hemijski sastav i varijabilnost površinskih <i>n</i> -alkana kod <i>Satureja montana</i>	185
4.3.2. Hemijski sastav i varijabilnost površinskih <i>n</i> -alkana kod <i>Satureja kitaibelii</i>	196
4.3.3. Hemijski sastav i varijabilnost površinskih <i>n</i> -alkana kod <i>Satureja subspicata</i>	203
4.3.4. Diferencijacija simpatrijskih populacija <i>S. montana</i> i <i>S. subspicata</i> na osnovu <i>n</i> -alkana	211
4.3.5. Diferencijacija svih proučavanih taksona na osnovu <i>n</i> -alkana	219
4.4. Terpeni	228
4.4.1.1. Hemijski sastav etarskog ulja <i>Satureja montana</i>	228
4.4.1.2. Varijabilnost etarskog ulja <i>Satureja montana</i>	235

4.4.2.1. Hemijski sastav etarskog ulja <i>Satureja kitaibelii</i>	252
4.4.2.2. Varijabilnost etarskog ulja <i>Satureja kitaibelii</i>	256
4.4.3.1. Hemijski sastav etarskog ulja <i>Satureja subspicata</i>	263
4.4.3.2. Varijabilnost etarskog ulja <i>Satureja subspicata</i>	271
4.4.4. Diferencijacija simpatrijskih populacija na osnovu sastava etarskog ulja	280
4.4.5. Diferencijacija proučavanih taksona na osnovu etarskog ulja.....	291
5 Diskusija	302
5.1. Morfometrija	302
5.1.1. <i>Satureja montana</i>	302
5.1.2. <i>Satureja kitaibelii</i>	303
5.1.3. <i>Satureja subspicata</i>	304
5.1.4 Uporedna morfometrijska analiza proučavanih taksona	306
5.2. Flavonoidi.....	308
5.2.1. <i>Satureja montana</i>	308
5.2.2. <i>Satureja kitaibelii</i>	310
5.2.3. <i>Satureja subspicata</i>	311
5.2.4. Uporedna analiza flavonoida kod proučavanih taksona.....	313
5.3 Alkani	316
5.3.1. <i>Satureja montana</i>	316
5.3.2. <i>Satureja kitaibelii</i>	318
5.3.3. <i>Satureja subspicata</i>	319
5.3.4. Uporedna analiza alkana kod proučavanih vrsta	321
5.4 Terpeni.....	324
5.4.1 <i>Satureja montana</i>	324
5.4.2. <i>Satureja kitaibelii</i>	330
5.4.3. <i>Satureja subspicata</i>	332
5.4.4. Uporedna analiza sastava etarskih ulja kod proučavanih takosna.....	335
5.5. Opšta diskusija	337
 6 Zaključci	 340
7 Literatura	346
8 Prilozi.....	391

1 Uvod

1.1. Lamiaceae

Familija Lamiaceae Marinov broji više od 7200 vrsta i oko 233 rodova. Ovde spadaju ekonomski značajne vrste kao što su nana, origano, žalfija, ruzmarin i mnoge druge lekovite i aromatične biljke. Familija je podeljena na šest podfamilija: Ajugoideae (24), Prostantheroideae (16), Wenchengioideae (1), Scutellarioideae (4), Lamioideae (69) i Nepetoideae (115 rodova) prema klasifikaciji koju je dao Takhtajan (2009).

Klasifikacija ove familije počinje sa Lineom koji je 1753 u svom delu "*Species Plantarum*" opisao samo klasu Didynamia Gymnospermia kojoj pripadaju mnogi današnji predstavnici usnatica, bez podele na taksone iznad roda. Mnogo precizniju klasifikaciju je dao Bentham (1832-1835) koji je familiju Lamiaceae podelio na 11 tribusa (Ocimoideae, Menthoidae, Monardeae, Satureineae, Melissineae, Scutellarineae, Prostanthereae, Nepeteae, Stachydeae, Prasieae, Ajugoideae). Međutim, ova podela se menjala kako se broj opisanih vrsta povećavao. U svojim kasnijim radovima (1848 i 1876) Bentham je familiju podelio na 8 tribusa (Ocimeae, Satureineae, Monardeae, Nepeteae, Stachydeae, Prasieae, Prostanthereae i Ajugeae). Briquet (1895-1897) je dao klasifikaciju koja se u mnogome oslanjala na Benthamovu i razlikovala se po tome što je Briquet većini tribusa dao nivo podfamilije, takođe, neke grupe je podelio a neke spojio u veliku podfamiliju npr. Lamioideae ("tribus Stachyoideae"). Podfamilija Lamioideae je bila podeljena na 12 tribusa, a činile su je pored četiri Benthamova (Satureieae "Mentheae sensu Briq.", Monardeae "Salvieae sensu Briq.", Nepeteae i Stachydeae "Lamiae sensu Briq.") još i Perilomleae, Marrubleae, Merlandreae, Monardeae sensu Briq. Pogostemoneae, Glechoneae, Hormineae i Lepechinieae. Ove dve klasifikacije familije Lamiaceae su dugo uticale na istraživače širom sveta, međutim, zbog različitih tretmana određenih grupa na nižim taksonomskim nivoima unele su dosta konfuzije. Istraživači iz Amerike i Afrike su uglavnom koristili klasifikaciju po Briquetu dok su istrživači iz ostatka sveta koristili onu po Benthamu. Alternativnu klasifikaciju, podelu na samo dve podfamilije na osnovu polenovih zrna dao je Erdtman (1945). On je predložio podelu na podfamiliju Lamioideae sa trikolpatnim polenovim zrnom koji se oslobađa u dvoćelijskom stadijumu i podfamiliju Nepetoideae sa heksakolpatnim polenovim zrnom koji se oslobađa u troćelijskom stadijumu. Ova podela je u skladu sa rezultatima istrživanja više embrioloških i fitohemijskih karaktera (Wunderlich

1967, Cantino i Sanders 1986). Takođe, odgovarala je Benthamovoj podeli na 8 tribusa, Stachydeae, Prasieae, Prostanthereae i Ajugeae su svrstane u Lamioideae a Ocimeae, Satureineae, Monardeae, i Nepeteae u Nepetoideae. Međutim, ovakva podela je dovela u pitanje klasifikaciju u okviru Lamioideae i njihovo odvajanje od Verbenaceae jer i neki predstavnici ove familije imaju trikolpatno polenovo zrno. Wunderlich (1967) je pored palinoloških podataka uzela u obzir i anatomiju semena i podelila familiju na 6 podfamilija (Prostantheroideae, Ajugoideae, Scutellarioideae, Lamioideae, Catoptherioideae, Saturejoideae), pri čemu su u poslednje dve podfamilije smešteni predstavnici podfamilije Nepetoideae po Erdtman-u (1945).

Među prvim autorima koji su se bavili filogenijom usnatice je bio Cantino (1992). On je na osnovu kladističkih analiza morfo-anatomskih podataka, koji su ukazivali na polifiletsko poreklo Lamiaceae sa nekoliko klada koje nezavisno potiču od Verbenaceae, dao mnogo napredniju podelu. Predložio je prebacivanje rodova sa cimoznim cvastima familije Verbenaceae, posebno iz podfamilija Caryopteridoideae, Chloanthoideae, Viticoideae i tribus Monochileae iz podfamilije Verbenoideae u Lamiaceae. Ova klasifikacija je bila u skladu sa podelama po Wunderlich (1967) i po Junell (1934) (koji je predložio da u okviru podfamilije Verbenoideae ostanu samo predstavnici sa prepoznatljivim racemoznim cvastima i trikolpatnim polenovim zrnom) i sadržala je 8 podfamilija Chloanthoideae, Viticoideae, Teucroideae, Ajugoideae, Scutellarioideae, Pogostemonoideae, Laminioideae i Nepetoideae. Ova klasifikacija je bila predmet različitih molekularno-kladističkih istraživanja (Wagstaff i sar., 1995, 1998; Cantino and Wagstaff, 1998). Wagstaff i saradnici (1998) su sprovedi obimno istraživanje hloroplasnih molekularnih markera *rbcL* i *ndhF* iz 33 predstavnika grupe Labiate s.l.. Rezultati koje su dobili ukazivali su da su Teucroideae, Scutellarioideae, Lamioideae, Pogostemonoideae i Nepetoideae prirodne grupe dok Chloanthoideae i Viticoideae to nisu. Harley i saradnici (2004) su uključili najveći broj dotadašnjih rezultata dobijenih na osnovu različitih istraživanja što molekularnih što fitohemijskih i podelili familiju na 7 podfamilija Ajugoideae (uključujući Teucroideae), Lamioideae (zajedno sa Pogostemonoideae), Nepetoideae, Prostantheroideae (ranije zvane Chloanthoideae), Scutellarioideae, Symphorematoideae i Viticoideae. Rodove *Callicarpa* i *Tectona*, koji su bili u podfamilijama Prostantheroideae i Viticoideae, su stavili kao "*taxa incertae sedis*". Međutim, i sami autori su naglasili da je ova podela privremena jer Viticoideae čak i sa ovom promenom ne čine prirodnu grupu. U poslednjih petnaest godina najveći

akcentat se stavlja na molekularna istraživanja kombinovanjem lokusa više različitih genoma (npr. hloroplastnih i jedarnih), pripadnika određenih taksona: tribusa (Paton i sar., 2004; Trusty i sar., 2004; Walker i sar., 2004; Drew i Sytsma, 2011, 2012); podtribusa (Bräuchler i sar., 2010) ili rodova (Prather i sar., 2002; Bräuchler i sar., 2005, 2008; Edwards i sar., 2006; Walker i Sytsma, 2007). Rezultati ovih istraživanja su uglavnom bili u skladu sa Harley-jevom klasifikacijom na nivoima podfamilija, međutim, odnosi mnogih rodova, posebno u podfamiliji Nepetoideae nisu do kraja razrešeni.

1.1.1. Nepetoideae

Podfamilija Nepetoideae prema Harley-u i saradnicima (2004) broji oko 105 rodova i čini najveću podfamiliju unutar Lamiaceae, dok po Takhtajanu (2009) broji oko 115 rodova. Sinapomorfne odlike su prisustvo žlezdanih trihoma bogatih isparljivim terpenima i ruzmarinskom kiselinom, heksakolpatni polen, ginobazični žig i seme bez endosperma (Harley i sar. 2004). Položaj rodova koji čine ovu podfamiliju kao i njen status se dosta menjao (Bentham, 1848; Briquet, 1896; Erdtman 1945; Wunderlich 1967; Cantino i sar. 1992; Harley i sar. 2004). Prvi koji joj je dao status podfamilije na osnovu polenovog zrna je bio Erdtman (1945), a ovaj položaj je potvrdila i Wunderlich (1967) na osnovu istraživanja anatomije polenovog zrna i semena. Jedina razlika je tretman roda *Catoferia* Benth. koji je Wunderlich (1967) smestila u podfamiliju Catoferioideae. Cantino i saradnici (1992) su na osnovu morfoloških i molekularnih podataka podelili ovu podfamiliju na četiri tribusa Elsholtzieae, Ocimeae, Lavanduleae i Mentheae. Harley i saradnici (2004) su prihvatili Cantino-ovu podelu na tribuse ali sa malom izmenom koja je nastala na osnovu novijih rezultata molekularnih istraživanja hloroplastnih regiona (Wagstaff et al., 1995), prema kojoj je rod *Lavandula* L. iz tribusa Lavanduleae prebačen u podtribus Lavandulinae u okviru tribusa Ocimeae čime su nastala tri tribusa (Elsholtzieae, Mentheae i Ocimeae). Takođe, rod *Melissa* je prebačen iz tribusa Mentheae u Mentheae *incertae sedis* zajedno sa rodом *Heterolanium*. Morfološka podela na pomenute tribuse je donekle subjektivna i zasniva se uglavnom na kombinaciji većeg broja karaktera nego na zajedničkim izvedenim osobinama. Ocimeae su grupisane na osnovu prašnika povijenih nadole, dok je podela između Elsholtzieae i Mentheae učinjena na osnovu broja nerava čašice, diferenciranosti krunice na donju i gornju usnu, oblika orašice i lisnog ožiljka. Posle Harley-jeve podele (2004) rađena su istraživanja molekularnih i morfoloških karaktera tribusa Mentheae i određenih taksona

koji mu pripadaju (Wagstaff i sar., 1995; Prather i sar., 2002; Paton i sar., 2004; Trusty i sar., 2004; Walker i sar., 2004; Bräuchler i sar., 2005, 2010; Edwards i sar., 2006; Walker i Sytsma, 2007; Drew i Sytsma, 2011). Rezultati ovih istraživanja ukazuju da iako je tribus monofiletski podtribusi to nisu, što znači, takođe, da su neki rodovi pogrešno klasifikovani. Takhtajan (2009) je podelio podfamiliju Nepetoideae na 12 tribusa: Elsholtzieae, Satureieae, Prunelleae, Meriandreae, Lepechinieae, Hormineae, Nepeteae, Glechoneae, Salviae, Rosmarineae, Catoferieae, Ocimeae, Lavanduleae. Takhtajan (2009) je u tribus Satureieae smestio najveći broj rodova iz podtribusa Menthinae (Harley i sar. 2004) osim 9 rodova koje je premestio u druge tribuse i dodao mu je 7 rodova.

1.1.2. Satureieae

Tribus Satureieae sadrži 40 rodova što je skoro trećina rodova podfamilije Nepetoideae. Kosmopolitski je rasprostranjena grupa i pokazuje diverzitet u staništu, načinu oprašivanja i formi cveta. (Takhtajan, 2009).

1.1.3. Satureja kompleks

Moglo bi se reći da najveći deo tribusa Satureieae čine rodovi i vrste koji su u nekom trenutku bili grupisani u *Satureja* kompleks. Čine ga jednogodišnje ili višegodišnje žbunaste i polužbunaste biljke sa kosmopolitskom distribucijom. Taksonomija ovog kompleksa je postala prilično zamršena posle Linea (1753). Istorijski pregled klasifikacija rodova i vrsta ovog kompleksa se ogleda u sedećem. Kompleks može da se posmatra na dva načina u užem (*sensu stricto*) ili širem smislu (*sensu lato*) Tabela 1.1.4.

Line (1753) je vrste ovog kompleksa podelio na 4 roda: *Satureja*, *Clinopodium*, *Melissa* i *Thymus*. U okviru roda *Satureja* se nalazilo osam vrsta: 3 vrste roda *Satureja* s.s., 2 vrste roda *Micromeria* Benth i po jedna vrsta rodova *Pycnanthemum* Michx., *Thymus* i *Cunila* Mill. Međutim, u XIII izdanju „*Systema vegetabilium*“ Line (1774) je ovaj kompleks podelio samo na dva roda na osnovu čašice. Prvi rod je *Satureja* koga čine vrste koje imaju čašicu koja je manje-više petozuba *Satureja* s.s. i *Micromeria* Benth. sekcija *Micromeria*. Drugi rod ima manje više dvousnatu čašicu i čine ga vrste rodova *Thymus*, *Clinopodium* i *Melissa*, zajedno sa vrstama rodova *Calamintha* Mill., *Acinos* Mill., *Micromeria* Benth. sekcija *Pseudomelissa*. Miller (1754) je objavio oko 260 novih rodova među kojima su bili i rodovi *Acinos* i *Calamintha*. Ipak, nije bio dosledan u korišćenju binomne nomenklature što otežava praćenje njegove

klasifikacije. Njegova podela se odnosila na grupu *Satureja* s.l. gde se nalaze vrste 4 roda *Acinos*, *Calamintha*, *Satureja* s.s. i *Clinopodium*. Moench (1794) je prvi podelio rod *Satureja* sensu Linne (1753) na rodove *Satureja* s.s. i *Sabbatia* Moench. Rod *Sabbatia* nije prihvaćen a odgovara rodu *Micromeria* Benth. sekcija *Micromeria*, jer je homonim za rod *Sabbatia* Adans. (1763) familije Gentianaceae. Ruiz & Pavon (1794) su objavili rod *Gardoquia* ali bez opisa vrste već samo sa ilustracijom vrste *G. multiflora*. Rod *Xenopoma* je prvi opisao Willdenow (1811) da bi smestio vrstu *X. viminea* (= *Satureja viminea* L. danas u rodu *Clinopodium*). Kasnija izdanja "*Species Plantarum*" nisu uzela u obzir rezultate pomenutih istraživača tako da je izdanje iz 1825. godine bilo zastarelo što je unelo dodatnu konfuziju u sistematiku ovog kompleksa.

Prvi koji je pokušao da uvede red u sistematiku ove grupe je bio Bentham. U svom delu "*Labiatarum Genera et Species*" 1832-1836, pored podele familije na 11 tribusa uključio je i pomenute novoopisane vrste i ispravio je Moenchov pogrešan naziv roda *Sabbatia* u *Micromeria* sekcija *Micromeria*. Vrste *Satureja* kompleksa je podelio u okviru dva tribusa, Satureineae i Melissineae. Prvi tribus je podelio na tri sekcije: *Satureja* s.s., *Tragoriganum* i *Pycnothymus*. Tribus Melissineae je bio podeljen na tri grupe *Micromeria*, *Melissa*, *Gardoquia*. U kasnijem radu Bentham (1848) je tribus Satureieae podelio na 5 podtribusa: Elsholtzieae, Menthoidae, Thymaeae, Melisseae i Anomalous genera, na osnovu karaktera cveta. Podtribus Melisseae su činile vrste koje imaju dvousnatu krunicu, голу cev krunice, 4 ili 2 prašnika koji su uzlazni od osnove, nalaze se ispod gornje usne, i bilokularne antere. U ovaj podtribus su bile smeštene skoro sve vrste koje su pripadale tribusima Satureineae i Melissineae iz prethodne klafikacije, nešto drugačije organizovane. Podtribus je podeljen na grupe *Satureja*, *Micromeria*, grupa *Calamintha* i grupu *Gardoguia*. U delu iz 1876 ova klasifikacija je u velikoj meri ostala ista, jedino što je dodao rod *Saccocalyx* Casson & Durand (1853) u okviru grupe *Satureja*. Boissier (1879) u svom delu "*Flora Orientalis*" je na osnovu nervature čašice i u kojoj meri je dvousnata podelio *Satureja* s.l. na rodove: *Satureja* s.s. sa pet sekcija (*Annuae*, *Eusatureide*, *Sublabiatae*, *Zataroidea* i *Tragoriganu*), *Micromeria* i rod *Calamintha*. Nyman 1855 je u tribus Thymaeae stavio rodove *Hominum*, *Melissa*, *Clinopodium*, *Satureja*, *Micromeria*, *Origanum*, *Thymus*, *Thymbra* i *Hyssopus*. Međutim, u kasnijoj klasifikaciji (1881) isti autor je pomenute rodove rasporedio u dva tribusa Thymaeae i Melisseae. Prema ovoj klasifikaciji u prvom tribusu su ostala samo tri roda *Origanum*, *Thymus* i *Thymbra*. U tribusu Melisseae su prebačeni *Hominum*, *Melissa*, *Hyssopus* *Clinopodium*, dodat je rod

Calamintha (sa dve sekcije *Eucalamintha* i *Acinos*) i rodovi *Satureja* i *Micromeria*.

Spajanje rodova *Satureja*, *Micromeria*, *Calamintha* i *Clinopodium* u jedan pod imenom *Clinopodium* je prvi uradio Kuntze (1891) dok je Scheele (1843) sve vrste pomenutih rodova kao i roda *Acinos* označio zajedničkim imenom *Satureja* L. i podelio rod na 5 sekcija (*Satureja*, *Micromeria*, *Saturejoides*, *Acinos*, *Calamintha*). Međutim ova dela, kao ni Visianijeva klasifikacija iz 1847. gde su ovi rodovi zasebni, nisu imali veliki uticaj na naučnu zajednicu. Mnogo veći uticaj je imao Briquet (1896) koji je, takođe, predložio spajanje pomenutih rodova, takođe, pod imenom *Satureja* zbog postojanja prelaznih formi, koje su imale između 10 i 13 nerava na čašici. Opisao je u okviru tribusa Stachydoideae, podtribus Satureieae koji je podelio na pet grupa (Melissinae, Hyssopinae, Thyminae, Menthinae i Perillinae). U grupi Melissinae se nalazi rod *Satureja* koji je podeljen na 14 sekcija: *Tragoriganum*, *Pycnothymus*, *Sabbatia* Briq. (koju su činile *Satureja* s.s. i *Micromeria* sekcija *Micromeria* Benth.), *Cymularia*, *Piperella*, *Cyclotrichum*, *Xenopoma*, *Hesperothymus*, *Gardoqua*, *Pseudomelissa*, *Calamintha*, *Calomelissa*, *Clinopodium* i *Acinos*. Ova klasifikacija najviše odgovara opisu *Satureja* s.l. i nazivu *Satureja* kompleks. Hayek (1929) je izdvojio rodove *Satureja*, *Micromeria* i *Calamintha*, ali bez podele na sekcije. Međutim, vrste rodova *Clinopodium* i *Acinos* je svrstao u rod *Calamintha*. Borisova (1954) ga je takođe, podelila na 5 rodova (*Satureja*, *Micromeria*, *Calamintha*, *Clinopodium*, *Acinos*) sa brojnim novim sekcijama i serijama. Rod *Satureja* ima jednu sekciju *Sabbatia* Briq. i 6 serija: *Annue* Boriss. (*S. hortensis*, *S. laxiflora*, *S. pachyphylla*, *S. altaica*), *Montanae* Boriss. (*S. montana*, *S. taurica*, *S. mutica*, *S. confinis*), *Spathulatae* Boriss. (*S. subdentata*, *S. intermedia*), *Cuspidatae* Boriss. (*S. bzybica*), *Macranthae* Boriss. (*S. macrantha*), *Hyssopiflorae* Boriss. (*S. spicigera*). Epling (1966) je radio na ovom problemu ali sa vrstama iz Amerike njegova klasifikacija se dosta oslanjala na Briquet-ovu ali je on imao 11 sekcija (Tabela 1.1.4.).

Najuticajnije klasifikacije u 20 veku su bile po Bentham-u (1848) i Briquet-u (1896). Naučnici iz Evrope i Azije su zastupali Bentham-ovu, dok su oni iz Amerike i Afrike koristili Briquet-ovu klasifikaciju. Primeri koji najbolje ilustruju ovo su Flora USSR (Schischkin, 1954), Flora Europaea (Ball i Getlife, 1972), Flora of Turkey (Davis, 1982), Flora Iranica (Rechinger, 1982). Greuter 1986 je u Med-Checklist pratio Briqueta. Diklić i Janković (1974) u flori SR Srbije su klasifikovali vrste familije Lamiaceae u okviru 30 rodova, vrste *Satureja* kompleksa su posmatrali u užem smislu, svrstali su ih u rodove *Satureja*, *Micromeria*, *Calamintha* i *Melissa*.

1.1.4. Istraživanja poslednjih pedeset godina

Nijedna od pomenutih klasifikacija familije Lamiaceae nije uspela da prevaziđe veliki broj sinonima i nedoslednosti u nomenklaturi. U 20. veku prvi koji je pokušao da uvede red u klasifikaciju na svetskom nivou posle Briquet-a je bio Doroszenko. U svojoj doktorskoj tezi Doroszenko (1986) je koristio uzak opis rodova tj. s.s.. Na osnovu morfološko-anatomskih karaktera promenio je opis mnogih taksona, neka imena je izbacio a uveo je neka nova. Grupisao je "svoje" rodove u četiri neformalne grupe: satureioidne rodove (*Satureja*, *Gontscharovia*, *Eubesperida*), mikromerioidne (*Micromeria*, "*Brenaniella*", "*Killickia*"), kalamintoidne (*Calamintha*, *Clinopodium*, *Acinos*, *Cyclotrichum*) i američke rodove (*Diodeilis*, "*Hesperothymus*", *Gardoquia*, "*Montereya*", "*Obtegomeria*", *Piloblephis*, *Xenopoma*). Ovaj rad nikad nije objavljen u celosti pa je njegov uticaj bio veoma mali.

Krajem 90-ih godina prošlog veka u velikoj meri su se istraživanja okrenula molekularnim metodama. Tako su Wagstaff i saradnici (1995) objavili prve rezultate molekularne filogenije podfamilije Nepetoideae, bazirane na analizi hloroplastne DNK. Rezultati su jasno ukazivali da je *Satureja* s.l. parafiletska sa nekim rodovima iz Novog i Starog sveta *Thymbra*, *Mentha*, *Monardella*, *Monarda* i *Hedoma*. Cantino i Wagstaff (1998) su predložili prebacivanje američkih vrsta roda *Satureja* u rod *Clinopodium* na osnovu morfoloških i filogenetskih podataka kako bi odnosi između taksona bili što prirodniji. Lopez (1981) je proučavao morfološke i anatomske karaktere *Satureja* u užem smislu. Prema Harley-ju i saradnicima (2004), u takson *Satureja* s.s. je uvršćen rod *Eubesperida* Brullo & Furnari (1979) i *Argantoniella* G. López & R. Morales, dok su u rod *Clinopodium* uvršćene američke vrste roda *Satureja* s.l., *Acinos* i *Calamintha*.

Trusty i sar. (2004) su proučavali rod *Bystropogon* zajedno sa još 33 od 72 roda koji su smešteni u tribus Mentheae (Cantino i sar. 1992) koristeći jedarne (ITS) i hloroplastne (gen *trnL* i *trnL-trnF* intergenski spejser) DNK regione. Iako se kladogrami koji su dobijeni na osnovu ova dva markera ne poklapaju u potpunosti, molekularne analize su ipak pokazale odvajanje na dve velike grupe: Kladu A i Kladu Salvia. Prva klada (A) odgovara današnjem podtribusu Menthinae, a drugu čine pomešani predstavnici podtribusa Nepetinae i Salviinae. Na osnovu ovih rezultata, rodovi *Satureja*, *Micromeria*, *Thymus* i *Origanum* su sestrinski ostatku istraživanih rodova podtribusa Menthinae.

Bräuchler i sar. (2010) su proučavali molekularnu filogeniju podtribusa Menthinae pomoću hloroplastnih (*trnK* i *trnL-trnF*) i jedarnih (ITS) markera. Rezultati su pokazali da je podtribus monofiletski, ali se vrste u okviru njega grupišu u tri grupe: Satureja, Micromeria i Clinopodium. Grupi Satureja pripadaju sve proučavane vrste osim dve (*S. linearifolia* i *S. thymbrifolia* koje su se grupisale sa vrstama roda *Thymbra* u okviru Micromeria grupe) i dva uzorka roda *Gontscharovia* (*G. popovii* 1 i 2). Vrste *Saccocalyx saturejoides* i *Argantoniella salzmanii* su se grupisale sa vrstama *Thymus* u okviru grupe Micromeria. Vrste rodova *Calamintha*, *Acinos/Ziziphora*, *Clinopodium*, *Bystropogon*, *Mentha*, *Cyclotrichium*, *Killickia*, “*Micromeria*” *madagascariensis*, *Conradina*, *Monarda*, *Hedeoma*, *Hoebnea*, *Acanthomintha*, *Kurzamra* i *Minthostachys* su grupisani u Clinopodium. Rodovi *Conradina*, *Monarda*, *Hedeoma*, *Hoebnea*, *Acanthomintha*, *Kurzamra* i *Minthostachys* čine grupu Novog sveta u okviru grupe Clinopodium. Zbog smeštanja većeg broja vrsta u rod *Clinopodium*, kao što je bio slučaj sa rodom *Satureja*, postoji velika morfološka varijabilnosti u okviru roda *Clinopodium* čime je sadašnja klasifikacija prilično neprirodna. Iz tog razloga, autori su predložili vraćanje nekih od ranijih naziva za rodove koji se danas tretiraju kao sinonimi (npr. *Diodeilis* Raf., *Gardoquia* Ruiz i Pav., *Xenopoma* Willd.) kako bi se dobila klasifikacija sa monofiletskim dobro-definisanim grupama. Takođe, primećeno je da tipični predstavnici roda *Clinopodium*, *Micromeria* i *Satureja* ne rastu u Americi. Deo današnje konfuzije oko klasifikacije potiče od toga što se mnogi naučnici koji se bave taksonomijom radije opredeljuju za neku od postojećih sistematika nego da rade globalnu reviziju. Drugi deo problema je to što su mnogi klasični koncepti zasnovani na homoplaziji morfoloških karaktera (npr. broj nerava na čašici). Autori ukazuju na to da je broj nerava više stvar konvergencije nego dijagnostički karakter, za razliku od oblika cevi čašice (Bräuchler i sar. 2010).

Tabela 1.1.4. Pregled klasifikacije roda *Satureja*

Line (1753)	Bentham (1826)	Boissiers (1879)
<i>Satureja</i>	Tribus: Satureineae	<i>Satureja s. l.</i>
<i>Satureja s. s.</i>	Sek. <i>Satureja</i>	<i>Satureja s. s.</i>
<i>Micromeria</i> (= Benth sek. <i>Micromeria</i>)	<i>S. rupestris</i> = <i>Micromeria</i>	Sek. <i>Annuae</i>
<i>Pycnanthemum</i>	Sek. <i>Tragoriganum</i>	<i>S. hortensis</i>
<i>Thymus</i>	<i>S. thymbra</i>	Sek. <i>Eusatureiae</i>
<i>Cunila</i>	Sek. <i>Pycnothymus</i>	<i>S. montana</i>
<i>Clinopodium</i>	<i>Piloblephis</i> Benth	<i>S.</i>
<i>Thymus</i>	<i>S. rigida</i>	<i>parnassiaca</i>
<i>Melissa</i>	Tribus: Melissineae	<i>S. spinosa</i>
Miller (1754)	Bentham (1848)	<i>S. cuneifolia</i>
<i>Satureja</i>	Tribus: Satureieae	<i>S. intermedia</i>
<i>Satureja s. s.</i>	Podtribus: Elsholtzieae	Sek. <i>Sublabiatae</i>
<i>Calamintha</i>	Podtribus: Menthoidae	<i>S. boissieri</i>
<i>Clinopodium</i>	Podtribus: Thymaeae	<i>S.</i>
3 Neidentifikovana roda	Podtribus: Melisseae	<i>subdentata</i>
Line (1774)	<i>Satureja</i>	<i>S. mutica</i>
<i>Satureja</i>	<i>S. rigida</i> (<i>Pogogyne</i>)	<i>S. spicigera</i>
<i>Satureja s. s.</i>	<i>Micromeria</i>	<i>S. macrantha</i>
<i>Micromeria</i> (Benth sek. <i>Micromeria</i>)	<i>Calamintha</i>	<i>S. longiflora</i>
<i>Thymus</i>	<i>Gardoginia</i>	<i>S. atropatana</i>
<i>Thymus</i>	Anomalous genera	Sek. <i>Zataroidea</i>
Line (1800)	Nymans (1855)	<i>S. bchtiarica</i>
<i>Satureja</i>	Tribus: Thymaeae	Sek. <i>Tragoriganum</i>
Rodovi u prvoj četvrtini 19 veka	<i>Horminum</i>	<i>S. thymbra</i>
<i>Satureja</i>	<i>Melissa</i>	
<i>Sabbatia</i> Moench	<i>Clinopodium</i>	
<i>Clinopodium</i> sensu L.	<i>Satureja</i> + <i>Micromeria</i>	
<i>Calamintha</i> sensu Miller ili <i>Melissa</i> sensu L.	<i>Origanum</i>	<i>Hyssopus</i>
<i>Acinos</i> sensu Miller ili <i>Thymus</i> sensu L.	<i>Thymus</i>	<i>Horminum</i>
<i>Gardoginia</i> Ruiz&Pavon	<i>Thymbra</i>	<i>Melissa</i>
<i>Xenopoma</i> Willd.	<i>Hyssopus</i>	<i>Clinopodium</i>
		<i>Calamintha</i>
		<i>Micromeria</i>
		<i>Satureja</i>
	Asa Grey (1886)	
	<i>Satureja</i> sensu Gray = <i>Satureja</i> sensu Bentham 1848	
	<i>Micromeria</i> sensu Gray = <i>Hesperothymus</i> sensu Bentham 1848	
	<i>Calamintha s. l.</i>	

nastavak tabele 1.1.4.

Briquet (1896)	Epling (1966)
Grupa: Satureja	Grupa: Satureja
Sek. <i>Tragoriganum</i>	Sek. <i>Gardoguia</i> sensu Briq.
<i>S. thymbra</i>	Sek. <i>Xenopoma</i> sensu Briq.
Sek. <i>Pycnothymus</i>	Sek. <i>Calomelissa</i> sensu Briq.
Sek. <i>Sabbatia</i> Brq. = <i>Satureja</i> sensu L. [<i>Satureja</i> s.s. + <i>Micromera</i> (sek. <i>Micromeria</i>)]	Sek. <i>Hesperothymus</i> sensu Briq.
<i>S. hortensis</i>	Sek. <i>Pycnothymus</i> sensu Briq.
<i>S. montana</i> kompleks	Sek. <i>Discolores</i>
Iran, Irak, SSSR, Turska = Sublabiata sensu Boisser	Sek. <i>Anomales</i>
<i>S. inodora</i> (Maroko, Spanija)	Sek. <i>Sphenostachys</i>
<i>S. bchtiarica</i>	Sek. <i>Obtectae</i>
	Sek. <i>Occidentalis</i>
	Sek. <i>Arenosae</i>
Sek. <i>Cymularia</i> = <i>Micromeria</i> sek. <i>Cymularia</i>	Ball i Getliffe (1972)
Sek. <i>Piperella</i> Briq.	<i>Satureja</i> s.s.
Sek. <i>Cyclotrichium</i> = <i>Calamintha</i> sek.	<i>Micromeria</i> s.s.
<i>Cyclotrichium</i> Boiss.	<i>Acinos</i> s.s.
Sek. <i>Xenopoma</i> = <i>Micromeria</i> sek. <i>Xenopoma</i>	<i>Calamintha</i> s.s.
Benth sa <i>S. banariensis</i>	<i>Clinopodium</i> s.s.
Sek. <i>Hesperothymus</i> = <i>Micromeria</i> sek.	Doroszenko (1986)
<i>Hesperothymus</i> Benth. bez <i>Conradina</i>	Grupa: Saturejoidinih rodova
Sek. <i>Gardoqua</i> sensu Benth. 1834	<i>Satureja</i> s. s.
Sek. <i>Pseudomelissa</i> = <i>Micromeria</i> sek.	<i>Gontscharovia</i>
<i>Pseudomelissa</i> Benth. + Boiss.	<i>Euhesperida</i>
Sek. <i>Calamintha</i>	Grupa: Mikromeroidnih rodova
Sek. <i>Calomelissa</i>	Grupa: Kalamintoidnih rodova
Sek. <i>Clinopodium</i>	Grupa: Američkih rodova
Sek. <i>Acinos</i>	
Kuntze (1891)	
Grupa: <i>Clinopodium</i>	
ostale grupe su iste kao kod Briquet-a 1896	

nastavak tabele 1.1.4.

Harley i sar. (2004)	Takhtajan (2009)
Podfamilija: Nepetoideae	Podfamilija: Nepetoideae
Tribus: Elsholtzieae	Tribus: Elsholtzieae
Tribus: Mentheae	Tribus: Satureieae
Podtribus: Salviinae	<i>Satureja</i> i još 39 rodova
Podtribus: Menthinae	Tribus: Prunelleae
<i>Satureja</i> i još 42 roda	Tribus: Meriandreae
Podtribus: Nepetinae	Tribus: Lepechinieae
Incertae sedis	Tribus: Hormineae
Tribus: Ocimeae	Tribus: Nepeteae
Podtribus: Lavandulinae	Tribus: Glechoneae
Podtribus: Hanceolinae	Tribus: Salviae
Podtribus: Hyptidinae	Tribus: Rosmarineae
Podtribus: Ociminae	Tribus: Catoferieae
Podtribus: Plectranthinae	Tribus: Ocimeae
Bräuchler i sar. (2010)	Tribus: Lavanduleae
Grupa: Satureja	
<i>Satureja</i>	
<i>Gontscharovia</i>	
Grupa: Micromeria	
Grupa: Clinopodium	

Drew i Sytsma (2012) su proćavali vrste tribusa Mentheae koristeći više hloroplastnih (*ycf1*, *ycf1-rps15*, *trnL-F*, *rpl32-trnL* [UAG]) i jedarnih (ITS i ETS) markera kao i evoluciju prašnika. Analizirali su skoro sve rodove iz podtribusa Menthinae (Harley i sar. 2004) – 58 od 65 rodova za hloroplastne i 64 od 65 rodova za jedarne markere. Vrste roda *Acinos* i *Killickia* Bräuchler i sar. (2008) su posmatrali kao posebne rodove za razliku od Harley i sar. (2004) koji su ih prvi rod (*Acinos*) tretirali kao deo roda *Clinopodium*, a drugi (*Killickia*) kao deo roda *Micromeria*. Takođe, vrste roda *Micromeria* sekcije *Pseudomelissa* koje su Bräuchler i sar. (2006) prebacili u *Clinopodium* Drew i Sytsma (2012) su posmatrali kao *Micromeria*. Rezultati su pokazali da podela Harley-a i sar. (2004) u okviru tribusa na podtribuse ne odslikava najbolje odnose među vrstama. Predložili su da pored postojećā tri podtribusa dodaju još dva nova *Prunellinae* i *Lycopinae*. Biogeografski podaci ukazuju na to da vrste ovog tribusa vode poreklo iz Mediterana i da su imali nekoliko širenja areala u Novom svetu. Najveći broj vrsta Novog sveta iz podtribusa Menthinae su rezultat jednog širenja areala u srednjem do kasnom Miocenu. Evolucija prašnika pokazuje da je bilo bar četiri tranzicije od četiri ka dva pršnika u okviru tribusa, jednom u podtribusu Salviinae i Lycopinae i bar dva puta u podtribusu Menthinae.

Ramak i sar. (2012) su proučavali filogeniju roda *Satureja* na području Irana pomoću jedarnog (ITS) i hloroplasnog regiona (*trnL-trnF*) na uzorku od 25 vrsta. Rezolucija ovih markera nije bila dovoljno velika (hloroplastni marker nije pokazao odvajanje dok je jedarni pokazao podelu na tri klade ali odnosi u okviru klada nisu bili jasno određeni).

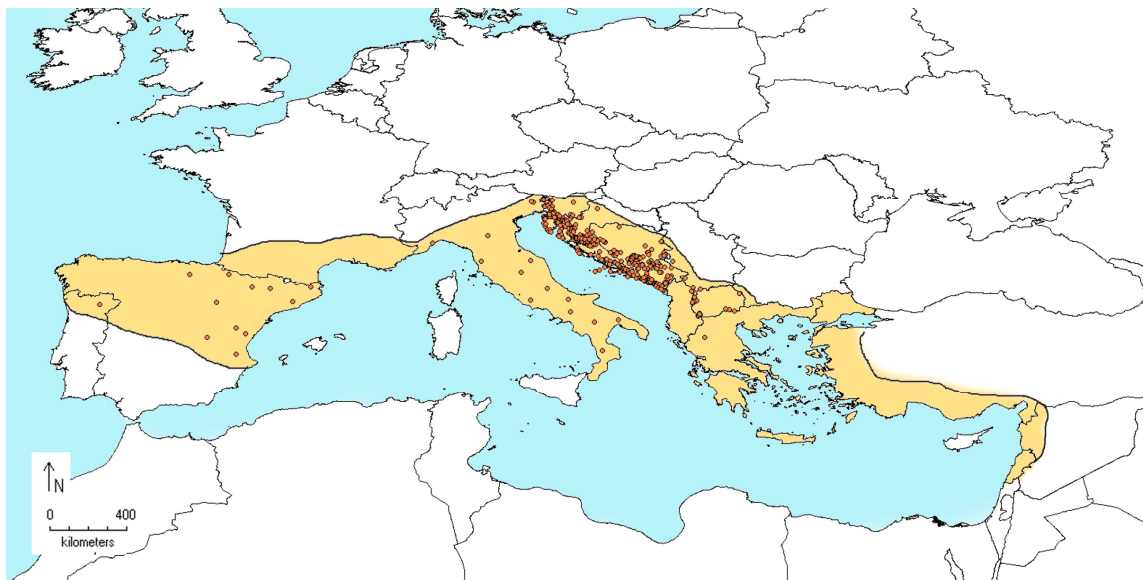
Šilić (1979) je proučavao vrste *Satureja* kompleksa na prostoru bivše Jugoslavije (SFRJ). Posmatrao je rodove u užem smislu. Na osnovu morfoloških karaktera velikog broja primeraka što iz prirode što iz herbarijumskih zbirki, posebno u rodu *Satureja*, na proučavnom prostoru opisao je 9 vrsta sa nekoliko podvrsta, varijeteta i formi. Veliki broj autora sa prostora SFRJ je koristio klasifikaciju po Šiliću prilikom proučavanja vrsta *Satureja* kompleksa. Slavkowska i sar. (2001) su proučavali sa fitohemijskog aspekta tri taksona roda *Satureja* sa prostora Srbije i Makedonije (*S. montana* L. ssp. *montana*, *S. montana* ssp. *pisidica* (Wettst.) Šilić i *S. kitaibelii* Wierzb. ex Heuff.). Fitohemijski markeri su pokazali sestrinski odnos podvrsta *S. montana* i *S. kitaibelii*. Bezić i sar. (2009) su analizirali jedarni ITS region kod pet vrsta roda *Satureja* koje rastu na prostoru Hrvatske i dobili su da su *S. subspicata* Bartl. ex Vis. i *S. visianii* Šilic srodne, a njima je sestrinska klada koju čine *S. montana* i *S. cuneifolia* Ten., dok je jednogodišnja *S. hortensis* sestrinska svim pomenutim vrstama.

1.1.5. Rod *Satureja* L.

Jednogodišnje zeljaste biljke ili žbunovi. Listovi linearni do lancetasti, po obodu celi ili neznatno nazubljeni sa utisnutim žlezdanim dlakama. Cvetovi dugački 5-15 mm, beli, plavi, ljubičasti ili ružičasti, sa kratkom cvetnom drškom. Čašica zvonasta sa 10 nerava i 5 zubaca ređe je čašica neznatno dvousnata. Krunica dvousnata, sa pravom kruničnom cevi, po dužini jednaka sa čašicom ili malo duža; gornja usna krunice prava, cela ili na vrhu usečena, donja trorežnjevita, sa zaokrugljenim režnjevima. Prašnika 4, nalaze se blizu gornje krunične usne, prednji malo duži od krunice. Na vrhu stubića nalaze se 2 jednaka režnja žiga. Plodići glatki, jajasti ili skoro okruglasti.

Rod obuhvata brojne vrste rasprostranjene u toplim oblastima obe hemisfere (Diklić i Janković, 1974). Na prostoru Balkana je rasprostranjeno 17 vrsta (Euro+Med, 2006).

1.1.6. *Satureja montana* L. 1753: Sp. Pl.:568



Slika 1.1.6.1. Mapa areala *S. montana*, tačke su podaci iz literature

Sinonimi: *Micromeria montana* (L.) Reichenb. 1831: Fl. Germ. Exscurs.: 31; *Saturiastrum montanum* (L.) Four. 1869: in Ann. Soc. Linn. Lyon N. S. 17: 133; *S. montana* L. var. *communis* Vis. 1847: Fl. Dalm. 2: 194; *Clinopodium montanum* (L.) Kuntze, 1891: Revis. Gen. Pl. 2: 515; *Thymus montanus* (L.) Dum. Cours., 1811: nom. illeg. Bot. Cult., ed. 2, 3: 32.

Visok polužbun ili patuljasti žbun 10-40 ređe 70 cm visok, veoma granat, sa snažnim korenovim sistemom, krivim stablom i dižućim do uspravnim, četverostranim do skoro okruglim, veoma odrevenelim granama.

Listovi lancetasti 1-3 cm dugi i 2-4 ređe 6 mm široki, pljosnati, u sredini najširi, celog oboda, manje više zašiljenog vrha, bez jasnog prelaska u lisnu dršku, u donjoj četvrtini sitno trepavičavo dlakavi, na licu i naličju sa žlezdanim trihomama.

Cvetovi 7-11 mm dugi, na dršci, sa izduženo lancetastim braktejama (dosežu do sredine čašice). Grupisani su u rastresite dihazijske sa 3-7 cvetova.

Čašica u zavisnosti od podvrste može biti cevasto-levkastog oblika (*Satureja montana* ssp. *montana*) ili kratko zvonastog oblika (*Satureja montana* ssp. *variegata* (Host) P. W. Ball), uglavnom 4-5 mm duga, ređe 3-7mm, sa 10 nejasnih nerava, površina gotovo gola ili maljava, u grotlu postoji dosta dugačkih dlačica; zupci šilasti, donji zubci su dublje usečeni

(odnos dužine donjih zupaca prema dužini čašične cevi 1:1,5-2 (*Satureja montana* ssp. *montana*) i 1:2-2,5 (*Satureja montana* ssp. *variegata*), ali su svi zupci po visini jednaki.

Krunice bele, ružičaste ili ljubičaste sa veoma proširenom cevi koja jasno nadvisuje čašicu, gornja usna okrugla, pljosnata; donja sa srednjim, zupčastim ili valovitim, režnjem. Jedan par prašnika iste visine ili nešto nadvisuje krunicu (Šilić 1979).

Orašice okruglasto jajastog oblika, 1-1,3 mm duge, svetlomrke sa finim tačkicama.

Naseljava livade i kamenite pašnjake, napuštene kulture, polusmirene sipare u mediteranskom i submediteranskom području od nivoa mora pa do 1.200 m. n. v., ali u samom primorju može da se nađe i na višim lokalitetima. Rasprostranjena je u južnoj Evropi, srednjoj Aziji (Sir-Dar, Taškent, Čimgan) (Slika 1.1.6.1) (Šilić, 1979).

Prema obliku čašice i dlakavosti listova Šilić (1979) je *S. montana* podelio na tri podvrste: *Satureja montana* ssp. *montana*, *Satureja montana* ssp. *variegata* i *Satureja montana* ssp. *pisidica*.

1.1.6.1. *Satureja montana* ssp. *montana*Slika 1.1.6.1.1. *S. montana* ssp. *montana*, fotografije N. Rajčević

Heterotipski sinonimi: *Micromeria pygmaea* Rchb. 1831: Fl. Germ. Excurs.: 311; *M. variegata* Rchb. 1832: Fl. Germ. Excurs.: 859; *Satureja trifida* Moench 1794: Methodus: 386; *S. mucronifolia* Stokes 1812: Bot. Mat. Med. 3: 300; *S. byssopifolia* Bertol. 1829: Ann. Storia Nat. 3: 406; *S. ciliata* Avé-Lall. 1846: Index Seminum (LE) 11(Suppl.): 66; *S. montana* var. *communis* Vis. 1847: Fl. Dalmat. 2: 194; *S. brevis* Jord. & Fourr. 1866: Brev. Pl. Nov. 1: 44; *S. flexuosa* Jord. & Fourr. 1866: Brev. Pl. Nov. 1: 45; *S. petraea* Jord. & Fourr. 1866: Brev. Pl. Nov. 1: 45; *S. provincialis* Jord. & Fourr. 1866: Brev. Pl. Nov. 1: 45; *S. rigidula* Jord. & Fourr. 1866: Brev. Pl. Nov. 1: 46; *S. pyrenaica* Jord. & Fourr. 1868: Brev. Pl. Nov. 2: 89; *Saturiastrum petraeum* Fourr. 1869: Ann. Soc. Linn. Lyon, n.s., 17: 133; *Satureja montana* var. *stenophylla* Boiss. 1879: Fl. Orient. 4: 563; *S. montana* var. *chamaebuxus* Briq. 1893: Lab. Alp. Mar.: 398; *S. montana* L. var. *typica* Pospichal 1899: Fl. des Osterr. Kust. 2: 565; *S. karstiana* Justin 1904: Mitt. Musealvereins Krain 17: 182; *S. ovalifolia* Huter, Porta & Rigo 1907: Oesterr. Bot. Z. 57: 402; *S. pollinonis* Huter, Porta & Rigo 1907: Oesterr. Bot. Z. 57: 402; *S.*

montana var. *subquadrangula* Rohlena; *S. montana* f. *subquadrangula* (Rohlena) Šilić 1974 publ. 1975: Glasn. Zemaljsk. Muz. Bosne Hercegovine Sarajevu Prir. Nauke 13: 107.

Izdanci snažni 20-40 retko 70 cm visoki, fino pahuljasti, sivo-zeleni višegodišnji grmovi. Listovi sa obe strane sa žlezdanim trihomama. Drške dihajizuma obično uspravne 3-5 mm duge (Slika 1.1.6.1.1).

Čašice cevasto-levkaste 4-5 (-7) mm duge, sa dosta dugačkim malo lučno savijenim zupcima. Odnos donjih zupaca prema dužini čašice 1:1,5-2.

Krunica bela, cev krunice do 7 mm duga sa 3-4 mm dugom gornjom usnom, koja je često ružičasta (Šilić, 1979).

Rasprostranjena je duž Mediterana, u Portugaliji, Španiji, južnoj Francuskoj, Italiji, SFRJ, Albaniji, Grčkoj, Turskoj i Libanu (Slika 1.1.6.1) (Diklić i Janković 1974; Šilić, 1979; Pignatti, 1982; Castroviejo, 1986; Strid i sar. 1986; Euro+Med, 2006).

1.1.6.2. *Satureja montana* ssp. *variegata* (Host) P. W. Ball 1972: Bot. J. Linn. Soc. 65: 352.



Slika 1.1.6.2.1. *S. montana* ssp. *variegata*, fotografije N. Rajčević

Sinonimi: *Satureja variegata* Host, 1831: Fl. Austriac. 2: 134; *Micromeria variegata* (Host) Reichenb. 1832: Fl. Germ. Excurs.: 859; *Satureja montana* L. var. *variegata* (Host) Vis. 1847: Fl. Dalmat. 2: 194; *S. montana* L. f. *variegata* (Host) Hayek 1929: Prodr. Fl. Penins. Balcan. 2: 315; *S. montana* L. f. *parviflora* Paulin in Dolšak 1936: Prirod. razpr. 3 (3): 127. *S. montana* auct. plur., non L.

Habitus kao i kod tipskog oblika. Dihazijum rastresitiji na 6-8 mm dujoj, tankoj, okrugloj peteljci koja nosi prosečno po tri cveta, na 2-3 (-3,5) mm dugim peteljkama.

Čašice kratke zvonaste 2,5-4 (-4,5) mm duge, sa kratkim krutim zupcima, svetlozelene. Odnos dužine donjih zubaca prema dužini cevi čašice 1:2-2,5.

Krunica ružičasto-beličasta do svetlo ružičasta, 6-10 mm duga sa belom cevi koja jedva nadvisuje čašicu, sa oko 3 mm dugom zupčastom gornjom usnom, koja je pri vrhu jače obojena i 5 mm dugom donjom purpurno-ljubičasto prošaranom donjom usnom sa režnjevima koji su zaokruženo pravouglasti sa manje više celim ivicama. Grotlo krunice

posuto stršećim belim papiloznim dlakama. Antere ružičaste, filamenti beli (Slika 1.1.6.2.1) (Šilić, 1979).

Rasprostranjena je u priobalnoj zoni severnog dela Jadrana, u Italiji, Sloveniji i Hrvatskoj (Šilić, 1979; Euro+Med, 2006).

1.1.6.3. *Satureja montana* ssp. *pisidica* (Wettst.) Šilić 1974 publ. 1975: Glasnik Zemaljskog Muzeja. Bosne Hercegovine Sarajevu Prir. Nauke 13: 108.



Slika 1.1.6.3.1. *S. montana* ssp. *pisidica*, fotografije N. Rajčević

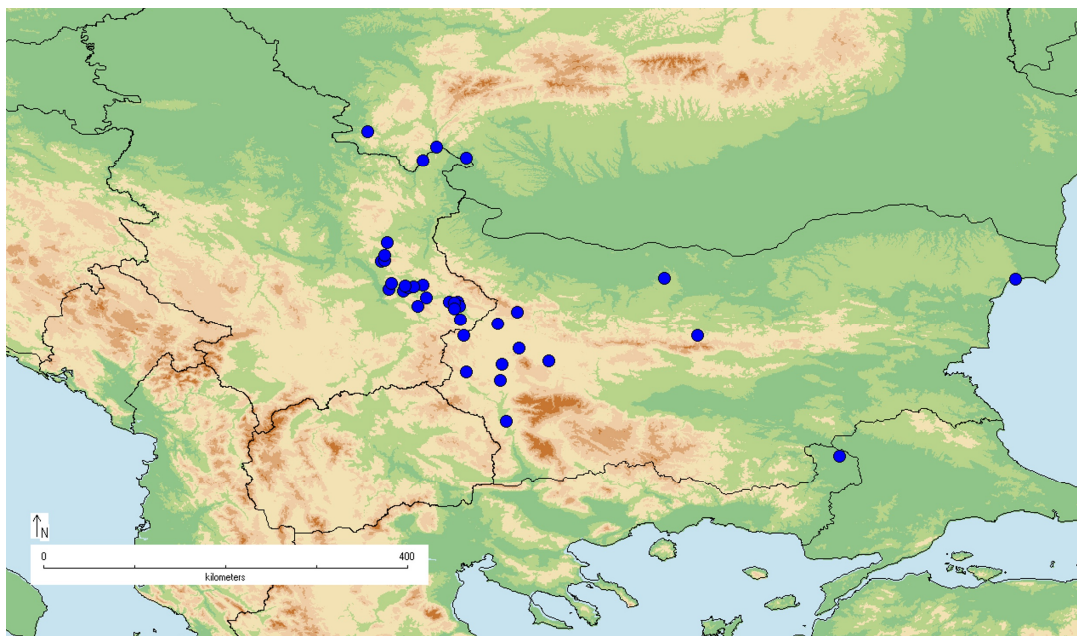
Sinonim: *Satureja pisidica* Wettst. 1890: Oesterr. Bot. Z. 40: 40. *S. macedonica* Formanek 1898 a: Verh. Naturf. Ver. Brunn 37: 62; *S. montana* L. var *pisidica* (Wettst.) Hal. 1902: Consp. Fl. Gr. 2: 551; *S. olympica* Hal. 1890: Osterr. Bot. Zeitschr. 40: 40.

Višegodišnja polužbunasta biljka sa jakim korenovim sistemom i gustim izdancima, koji su do polovine visine odrveneli i koji su na poprečnom preseku oštro četvorostrani, na dve suprotne strane obrasli gustim krutim dlačicama. Listovi sedeći, kožasti, sivozeleni, sa obe strane, a posebno na naličju obrasli krutim nežlezdanim višćelijskim dlakama i posuti okruglim žlezdanim trihomima, po obodu trepavičavi.

Dihazijum sedeći ili skoro sedeći. Čašice izduženo zvonaste 6-7 mm duge, sa duboko usečenim trouglastim zupcima. Cev čašice duža od zupaca. Krunice 12-14 mm duge, bele, spolja obrasle trihomima (Slika 1.1.6.3.1). Orašice 1,3-1,5 mm duge i 0,6-0,9 mm široke, kestenjasto mrke, na leđnoj strani sa 3 tamnije pruge (Šilić, 1979).

Rasprostranjenja u FJROM, Grčkoj, Turskoj i Libiji, (Slika 1.1.) (Šilić, 1979; Euro+Med, 2006).

1.1.7. *Satureja kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. 1858: Verh. K. K. Zool.-Bot. Ges. Wien 8: 177.



Slika 1.1.7.1. Mapa areala *S. kitaibelii*, tačke predstavljaju lokalitete iz literature

Sinonimi: *Satureja montana* var. *kitaibelii* (Wierzb. ex Heuff.) Nyman 1881: Consp. Fl. Eur.: 591; *S. montana* var. *kitaibelii* (Wierzb. ex Heuff.) Briq. 1895: Lab. Alp. marit.: 400; *S. montana* ssp. *kitaibelii* (Wierzb. ex Heuff.) P. W. Ball 1972: Bot. J. Linn. Soc. 65: 352.

Višegodišnji polužbun 30-50, ređe 70 cm visok, sa dobro razvijenim korenovim sistemom. Izdanci brojni, pri dnu odrveneli, uspravni, jednostavni ili manje više razgranati; na poprečnom preseku oštro četvorougli, sjajni na dvema suprotnim stranama imaju prave ili prema dole savijene, kukaste bele višćelijske dlačice. Kora izdanka pri dnu smeđemrka, mat, bliže listovima svetlija sjajna, pri vrhu zelena sa ljubičastim odsjajem (Šilić, 1979).

Listovi izduženo lancetasti, sedeći, kruti i kožasti, najširi u sredini ili u gornjoj trećini dužine. Pri vrhu zašiljeni i najčešće se završavaju kratkom mekom bodljicom, posebno listovi u gornjem delu izdanka. Osnova lista izduženo klinasta. Lisna ploča gola, sjajna, sitno papilozna, sa obe strane gusto prekrivena okruglim žlezdanim dlakama. Obod lista ceo ili sa jedva primetnim retkim zupcima. Obod osnove lista trepljast, sa krutim belim dlačicama, koje se prema vrhu smanjuju i nestaju. Donji listovi široko lancetasti ili izduženo eliptični (15-) 25-30 (-40) mm dugi i prosečno (4-) 5-8 mm široki, gornji su linearno lancetasti. Brakteje linearno lancetaste (Šilić, 1979).



Slika 1.1.7.2. *S. kitaibelii*, fotografije N. Rajčević

Cvetovi dosta zbijeni, smešteni u (1-) 3-7 (-9) cvetne dihajizjume, koji su na kraćoj ili dužoj uspravnoj dršci. Pojedinačni cvetovi su na (1-) 2-3 (-4) mm dugim drškama.

Čašica (4-) 6-7 mm duga, valjkasto izdužena, spolja sitno dlakava i sa krupnim okruglim žlezdanim trihomama i sa 10 izraženih nerava; iznutra gola, sjajna, u grotlu sa prstenom oskudnih belih, višćelijskih uspravnih nežlezdanih dlačica. Čašica tamno zelena, često sa ljubičastim odsjajem. Zupci čašice veoma šilasti, goli, jedino su u osnovi sitno zupčasto dlakavi; dva donja su dublje usečena od ostalih. Cev čašice približno dva puta duža od zupaca.

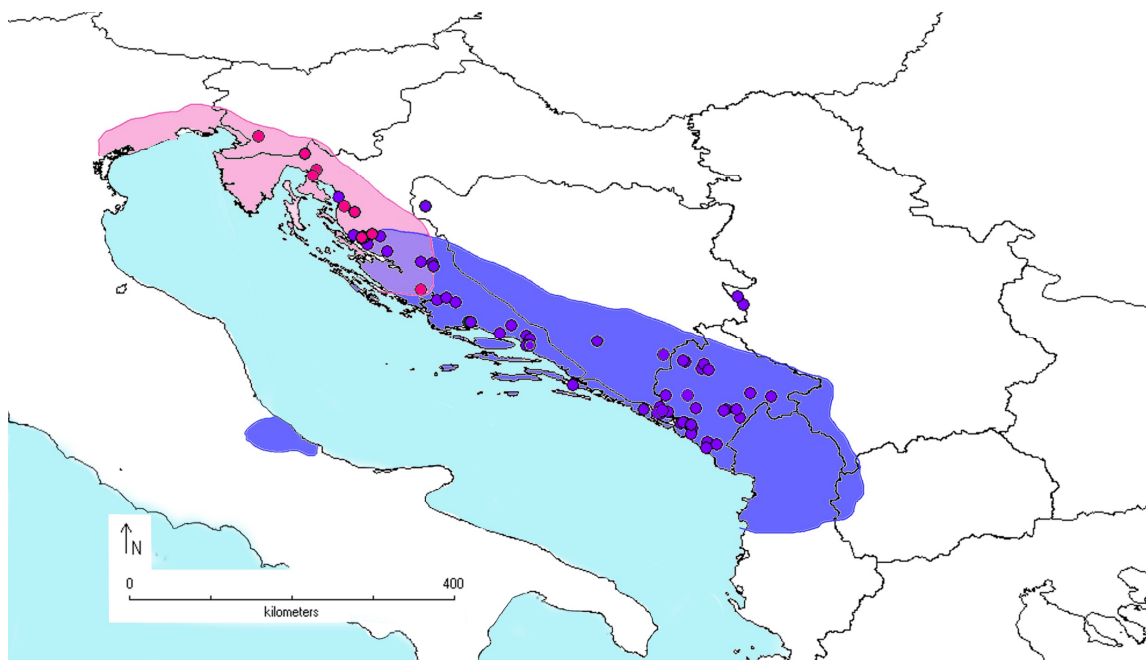
Krunica ružičasto purpurna, 12-14 mm duga, spolja sitno dlakava, u grotlu sa čupercima dlačica. Gornja usna pri vrhu poluokrugla, donja usna duboko usečena na 3 dela podeljena, pri čemu je srednji režanj veći od ostalih, slika 1.1.7.2 (Šilić, 1979).

Orašice jajasto-eliptične 1,4-1,5 mm duge, oko 1 mm široke, tamnomrke, papilozne sa gustim žlezdanim dlakama, na gornjoj strani sa 2-3 (-5) tamnije uzdužne žilice; pri vrhu zaobljene, u osnovi nešto sužene (u obliku tupog kljuna); gornja strana konkavna, donja tupougaona.

Nastanjuje najčešće otvorene krečnjačke kamenjare montanog pojasa u rasponu od 500 do 1.000 m. n. v. (Šilić, 1979).

Rasprostranjena je u severnoistočnom delu Balkanskog poluostrva: istočna Srbija, južna Rumunija, zapadna Bugarska, slika 1.1.7.1 (Jordanov, 1963; Diklić i Janković, 1974; Săvulescu, 1976; Šilić, 1979; Euro+Med, 2006) .

1.1.8. *Satureja subspicata* Bartl. ex Vis. 1826: Stirp. Dalmat. Spec. 2: t. 4.



Slika 1.1.8.1. Mapa areala *S. subspicata* prilagođeno iz Šilić, 1974, tačke označavaju lokaliteta iz literature (roze *S. subspicata* ssp. *liburnica*, plavo *S. subspicata* ssp. *subspicata*)

Sinonim: *Satureja pygmaea* Sieber in Koch 1832 in Rohlings: Deutschl. Flora 4: 231; *S. illyrica* Host 1832: Fl. Austr. 2: 133; *Micromeri pygmaea* Reichenb. 1832: Fl. Germ. Excurs: 311; *Satureja montana* L. var. *subspicata* (Bartl. ex Vis.) Vis. 1847: Fl. Dalmat. 2: 194; *S. montana* L. var. *illyrica* Benthham 1848 in DC. Prodr. 12: 210; *S. montana* L. ssp. *illyrica* Nyman 1881: Consp. 591.

Uspravni, polegli ili poluuzdignuti višegodišnji polužbun visine (6-) 8-20 (-40) cm, čiji su korenovi i izdanci, pri dnu, odrveneli. Stabljike nerazgranate ili razgranate, manje više uspravne, potpuno gole, glatke (ređe okolo slabo dlakave ili dlakave samo na suprotnim stranama) na poprečnom preseku izrazito četvorostrane (Šilić, 1979).

Listovi debeli, kožasti, s donje strane (ili sa obe) sa žlezdanim dlakama, po ivici glatki ili rapavi, u donjoj trećini trepavičasti ili goli; u gornjoj trećini najširi. Donji listovi 18-20 (-23) mm dugi i oko (3-) 4-6 mm široki, pri vrhu tupo zašiljeni, od polovine se postepeno sužavaju, goli ili retko dlakavi. Srednji listovi 12-15 (-22) mm dugi, i oko 2,5-3(-4) mm široki sa naglo izvučenim šiljatim vrhom, goli. Gornji listovi usko lancetasti, pri vrhu naglo zašiljeni, izvučeni u 1-1,5 mm dugi mekani šiljak, prema dnu se sužavaju, goli, uz centralni

nerv retko dlakavi, sa obe strane sa retkim žledanim dlakama (Šilić, 1979).

Cvetova po 2-5 složenih u dihajizijume, koje zajedno obrazuju zbijene ili rastresite prividne klasove. Pojedinačni cvetovi na (1,5-) 2-4 (-5) mm dugim papiloznim, kratkim gusto dlakavim ili golim peteljka, koje su znatno kraće od brakteja (Šilić, 1979).

Čašica je široko zvonasta ili dugo cevasta, debela i kožasta, 5-6 (-11) mm duga sa 10 izraženih nerava, spolja sjajna, tamnozeleno ili prljavo ljubičasta, duž nerava retko dlakava ili gola posuta brojnim žlezdanim dlakama; unutar gola, sjajna, u grotlu sa prstenom od gustih belih uspravnih nežlezdanih dlaka. Zupci čašice znatno kraći od cevi ili iste dužine kao cev, dva donja dublje usečena, izduženo kopljasti, šilasti. Delovi između zupaca u obliku slova "U". Zupci na poprečno preseku trouglasti, po rubu trepavičasti (Šilić, 1979).

Krunica 10-12 mm duga. Gornja usna oko 4-5 mm duga, pri vrhu zaokružena, često manje više usečena, donja usna duboko trorežnjevita pri čemu je srednji režanj zaokružen ili blago ulegnut, po ivici krpasto-talasast, u osnovi uža, u grotlu sa gustim čuperkom belih nežlezdanih dlaka. Krunica purpurna do purpurnoljubičasta, cev krunice beložuta, nadvisuje čašicu. Antere, purpurnoljubičaste, filamentu goli. Dva donja prašnika dopiru do polovine gornje usne, dva gornja u istoj visini ili je nadvisuju. Tučak beo, gladak, znatno nadvisuje krunicu, žig duboko rascepljen (Šilić, 1979).

Orašice jajasto okruglaste (1-) 1,2-1,3 (-1,5) mm duge i oko 1-1,2 mm široke, pri vrhu široko zaobljene, kestenjasto smeđe, papilozne, glatke (Šilić, 1979).

Živi na višim položajima Dinarskog krša, gde se najčešće javlja na izloženim grebenovima i vrhovima. Često se spušta u niže predele gde se meša sa populacijama *S. montana* L. Javlja se u rasponu (100-) 200-1.800 m. n. v., često i više (Šilić, 1979).

Distribucija Italija, Slovenija, Istra, Hrvatska, Bosna i Hercegovina, Crna Gora, Srbija i severna Albanija (Slika 1.1.8.1) (Diklić i Janković, 1974; Šilić, 1979; Pignatti, 1982; Euro+Med, 2006).

S. subspicata je podeljena na osnovu dužine i gustine cvasti, položaja čašice u odnosu na stablo, oblika čašice i dužine zupaca na dve podvrste: *S. subspicata* Bartl. ex Vis. ssp. *subspicata* i *S. subspicata* ssp. *liburnica* Šilić (Šilić, 1979).

1.1.8.1. *Satureja subspicata* Bartl. ex Vis. ssp. *subspicata*Slika 1.1.8.1.1. *S. subspicata* ssp. *subspicata*, fotografije N. Rajčević

Heterotipski sinonimi: *Satureja illyrica* Host 1831: Fl. Austriac. 2: 133; *S. pygmaea* Sieber ex Vis. 1826: Stirp. Dalmat. Spec.: 11; *S. montana* var. *blavii* Asch. ex K. Malý 1907: Oesterr. Bot. Z. 57: 158; *S. montana* var. *illyrica* (Host) Benth. 1848 in de Candolle, Prodr. 12: 210; *S. montana* ssp. *illyrica* (Host) Nyman 1881: Consp. Fl. Eur.: 591; *S. pygmaea* var. *obcordata* Horák 1898: Sitzungsber. Königl. Böhm. Ges. Wiss., Math.-Naturwiss. Cl. 1898: 10; *S. subspicata* var. *blavii* (Asch. ex K. Malý) K. Malý 1908: Exsicc. (Herb. Norm.) 49-50: 302; *S. subspicata* var. *macedonica* Velen. 1910 publ. 1911: Sitzungsber. Königl. Böhm. Ges. Wiss., Math.-Naturwiss. Cl. 8: 11; *S. subspicata* var. *obcordata* (Horák) Šilic 1979: Monogr. *Satureja* Fl. Jugosl.: 105; *S. subspicata* var. *scabrifolia* Rohlena; *S. subspicata* f. *obovata* Šilic 1974 publ. 1975: Glasn. Zemaljsk. Muz. Bosne Hercegovine Sarajevu Prir. Nauke 13: 110; *S. subspicata* f. *scabrifolia* (Rohlena) Šilic 1974 publ. 1975: Glasn. Zemaljsk. Muz. Bosne Hercegovine Sarajevu Prir. Nauke 13: 110.

Stabljike znatno više od onih kod *S. subspicata* ssp. *liburnica*, pretežno razgranate, uspravne ili uzdignute ili sprasto povijene. Stabljike gole ili retko dlakave na suprotnim stranama (Šilic, 1979).

Cvast rastresitija, duga 2-5 (-15) cm . Čašice skoro pod pravim uglom u odnosu na stabljiku, cevasto zvonaste ili zvonaste, 4-5 mm duge. Tri gornja zupca čašice znatno kraća, usko truglasta, Slika 1.1.8.1 (Šilić, 1979).

Rasprostranjenje: Italija, Dinaridi i primorski delovi: Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Crna Gora, jugozapadna Srbija i severna Albanija, slika 1.1.8.1. (Šilić, 1979, Pignatti, 1982; Euro+Med, 2006).

1.1.8.2. *Satureja subspicata* ssp. *liburnica* Šilić 1974 publ. 1975: Glasn. Zemaljsk. Muz. Bosne Hercegovine Sarajevu Prir. Nauke 13: 110.



Slika 1.1.8.2.1. *S. subspicata* ssp. *liburnica*, fotografije N. Rajčević

Sinonim: *Satureja pygmaea* Sieber in sched. nomen nudum, Sieber; *S. subspicata* f. *liburnica* (Šilić) Šilić 1979: Monogr. *Satureja* Fl. Jugosl.: 109.

Stabljike (6-) 8-20 (-40) cm visoke, uspravne, proste, razgranate, gole. Listovi goli ili retko dlakavi, po ivici i u donjoj trećini trepavičasti, sa obe strane posuti trihomima bogatim etarskim uljima. Brakteje usko lancetaste, šilaste, kraće ili skoro iste dužine kao cev čašice, ređe duže (Šilić, 1979).

Cvast zbijena, kratka 2-3, ređe 4 cm duga. Pojedinačni cvetovi na kratkim oko 2 mm dugim papiloznim drškama (Šilić, 1979). Čašice uspravne, smeštene pod ostrim uglom u odnosu na stabljiku 8-9 (-10) mm duge, cilindrične, duž nerava retko pleglo dlkave ili gole, posute retkim žlezdanim dlakama. Zupci čašice uski, izduženi šilasti iste dužine kao i cev čašice, dva donja više usečena i nešto duža od gornjih. Antere gole, purpurne (Slika 1.1.8.2.1) (Šilić, 1979).

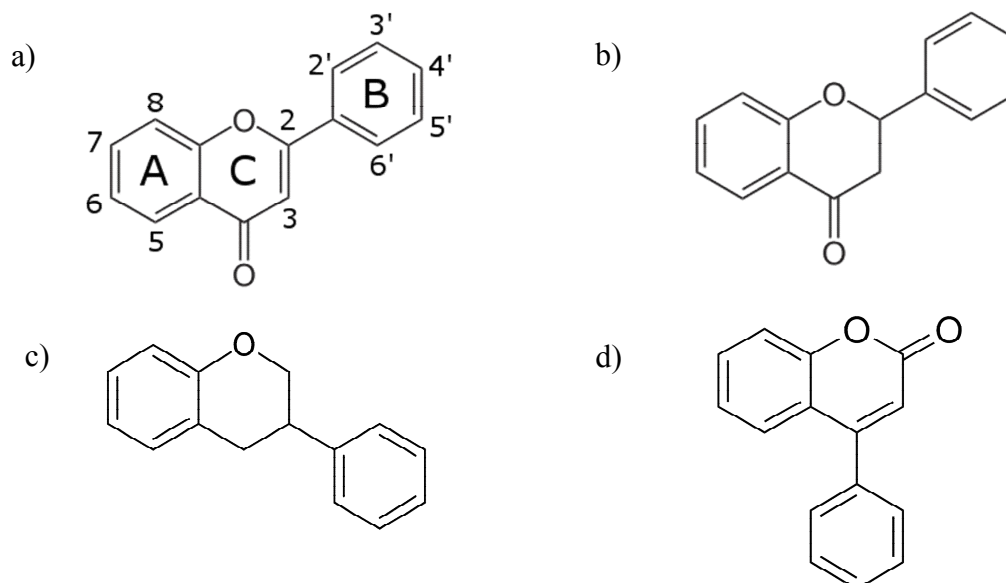
Rasprostranjenje: Italija (okolina Trsta), Slovenija, Hrvatska, Bosna i Hercegovina, slika 1.1.8.1. (Diklić i Janković, 1974; Šilić, 1979; Pignatti 1982; Euro+Med, 2006)

1.2. Flavonoidi

Flavonoidi čine veliku grupu prirodnih proizvoda koji su široko rasprostranjeni u biljnom svetu i kod jedne vrste algi (Andersen i Markham, 2005). Ranije su ih smatrali nus-proizvodima metabolizma biljaka, dok danas pripadaju specijalizovanim metabolitima (Janačković i sar. 2017). Flavonoidi vrše različite funkcije: štite biljaku od UV zračenja, služe kao antioksidansi, moduliraju aktivnost enzima, štite biljku od patogena i herbivora, učestvuju u privlačenju oprašivača (posebno antocijani) i životinja zaduženih za rasejavanje semena (Andersen i Markham, 2005). Antocijani (obojeni flavonoidi) su odgovorni za obojenost cvetova i plodova, žuti flavoni i flavonoli, takođe, doprinose obojenosti cvetova, što utiče na interakciju između životinja i biljaka (Alkema i Seager, 1982). Međutim bezbojni flavonoidi (flavoni, flavonoli, flavanoni, izoflavoni, itd.) su mnogo više rasprostranjeni i njihova uloga je više vezana za opstanak biljke (Andersen i Markham, 2005). Flavonoidi se nalaze unutar i van ćelija. U ćeliji su najčešće smešteni u vakuoli, a mogu se naći i u jedru. Izlučuju se na površinu biljnih organa, pa se mogu naći i na korenovim dlačicama, na površini izdanaka, listova, cvetova i dr. Postoje u slobodnom aglikonskom obliku i vezani za glikonsku komponentu kao glikozidi. Aglikoni su najčešće lokalizovani na površini biljnih organa. Zbog svojih funkcija u biljnom organizmu najviše je proučavana njihova antioksidativna, antimikrobna, UV zaštita, antikancerana, medicinska uloga i itd (Andersen i Markham, 2005). Površinski aglikoni se mogu koristiti i kao hemotaksonomski markeri (Barberan i sar. 1988, Marin i sar. 2003; Skoula i sar. 2008).

Flavonoidi se mogu klasifikovati na tri klase prema pozicije veze aromatičnog prstena i benzopirano dela: flavonoidi (pozicija 2-fenil grupe), izoflavonoidi (izomerizuju u poziciju 3) i ili neoflavonoidi (izomerizuju u poziciju 4) (Slika 1.2.). Pomenute klase dele zajedničke halkonske prekursore. Četvrtu grupu bi činili manje zastupljeni flavonoidi koji, takođe, imaju $C_6-C_3-C_6$ skelet: hidroksi halkoni, *retro*-halkoni, auroli i auroli (Grotewold, 2006; Buckingham i sar. 2015). Pored ove klasifikacije, veoma je česta ona koju je uspostavio (Harborne, 1989), gde se flavonoidi dele na antocijanine odnosno one izvedene iz jedinjenja cijanidin, zatim žute flavonoide (žuti flavoni, žuti flavonoli, halkoni i još neka grupa) i bezbojne flavonoide.

Do sada je identifikovano oko 20.000 različitih jedinjenja, međutim smatra se da je taj broj mnogo veći zbog mogućnosti vezivanja velikog broja različitih funkcionalnih grupa na nekoliko različitih pozicija unutar osnovnog molekula (Buckingham i sar. 2015).



Slika 1.2. Podela flavonoida i numeracija prstenova flavonoida: a) flavonoid; b) flavanon; c) izoflavonoid; d) neoflavonoid.

1.2.1 Flavoni i flavanoni

Ovi aglikoni spadaju u grupu bezbojnih flavonoida koji imaju funkcije važne za život i preživljavanje biljke, kao što su antioksidativna aktivnost, privlačenje oparašivača, zaštita od UV zračenja, patogenih mikroorganizama, herbivora (Andersen i Markham, 2005).

Flavoni i flavanoni imaju skelet od 15 ugljenikovih atoma ($C_6-C_3-C_6$), koji se sastoji od dva fenilna prstena (A i B) i heterocikličnog prstena (C), po IUPAC-u se osnovni skelet naziva 2-fenil-1,4-benzopiran. Flavoni i flavanoni se razlikuju po nedostatku dvogube veze u prstenu C kod flavanona, Slika 1.2.1 (McNaught i sar. 1997). Sva tri prstena mogu biti suspstituisana u određenim položajima i to 5, 6, 7 i 8 na A prstenu, 2', 3', 4', 5', 6' na prstenu B i u položaju 2 i 3 na prstenu C kod flavanona a samo u položaju 3 kod flavona, različitim grupama, npr. hidroksi (-OH), metoksi (-OMe), C-metil (-CH₃) i dr. (Andersen i Markham, 2005). Mogu se javiti kao glikozidi ili aglikoni. U zavisnosti od glikozilacije, naći će se kao aglikoni u kutikularnom matriksu ili će se naći u vakuoli. Šećerna komponenta koja se vezuje je najčešće monosaharid, glukoza i ramnoza, ređe arabinoza i drugi šećeri. Uglavnom se vezuju za hidroksi grupu u položaju 3 i 7, ali mogu se naći i na svim ostalim pozicijama, jedan od najčešćih glikozida je luteolin 7-O-glukozid (glukoluteolin) (Andersen i Markham, 2005). Kod vrsta roda *Satureja* su pronađeni aglikoni: flavoni, flavonoli, flavanoni, flavan-3-oli i flavanonoli (najčešći flavoni su luteolin i apigenin) i glikozidi: flavanoid glukozid, flavanon glukozid, flavon glukozid i flavonol glukozid, pored pomenutog glukozida su

prisutni i apigenin glukozid, apigenin-7-O-glukozid, naringenin glukozid, prunin, hesperidin, naringenin itd. (Tepe i Cilkiz, 2015).

1.2.2. Biološka uloga flavona i flavanona

Bezbojni flavonoidi imaju različite funkcije u biljkama. Nalaze se na površini biljnih organa i u samim ćelijama. Ako se nalaze na površini biljnih organa, posebno listova, ulaze u sastav epikutikularnih voskova gde se nalaze u aglikonskom obliku.

Pokazano je da kod biljaka ove dve grupe jedinjenja imaju vrlo različitu i vrlo značajnu biološku ulogu, učestvujući u interakciji i sa abiotičkim i biotičkim faktorima. Dosadašnja istraživanja su pokazala značajnu ulogu u zaštiti biljaka od UV zračenja (Cuadra i sar. 1997), u preživljavanju na zemljištima zagađenim teškim metalima (Kidd i Monterroso, 2005), u antioksidativnoj zaštiti (Ryani sar. 2002). Takođe, igraju značajnu ulogu u interakcijama sa drugim organizmima, kao što je odbrana od herbivora (Hedin i Waage, 1986; Fahey i Jung, 1989), zatim interakcija u oprašivanju i rasejavanju (Wijsman, 1983; Markhami sar. 2001; Sasaki i Takahashi, 2002), imaju i ulogu signalnih molekula (Jacobs i Rubery, 1988).

Ova jedinjenja štite fotosintetski aparat od prevelike količine UV zračenja koje može dovesti do oštećenja molekula DNK i na taj način onemogućiti fiziološke procese. Flavoni koji se sakupljaju u biljnom tkivu u epidermalnim ćelijama jako apsorbuju UV svetlost zahvaljujući O-metilaciji aglikona koja pomera talasne dužine UV apsorpcije ka kraćim talasnim dužinama, najčešće u oblasti od 250 do 320 nm (Cuadra i sar. 1997).

Zatim, pomažu biljkama da prežive na zemljištima zagađenim teškim metalima. Istraživanja su pokazala da koren biljka kukuruza koji su bili izloženi aluminijumu izlučuju veće količine fenolnih jedinjenja. Flavonoidi imaju sposobnost da vežu metale. Međutim, smatralo se da je malo verovatno da fenolna jedinjenja uključujući i flavonoide mogu da budu efikasna u vezivanju teških metala u kiselim sredinama zbog kompeticije H^+ jona za formiranje kompleksa. Kidd i Monterroso (2005) su pokazali da određeni flavonoidi formiraju komplekse sa aluminijumom u korenu, posebno morin (pentahidroksiflavon) i katehin. Alternativna hipoteza je da ova jedinjenja samo pomažu biljci da se izbori sa oksidativnim stresom koji izazivaju teški metali kao što su bakar i aluminijum (Andersen i Markham, 2005).

Posebno je važna antioksidativna uloga flavonoida, najviše onih koji se nalaze u

citoplazmi jer su oni mnogo bolje pozicionirani da interaguju sa reaktivnim kiseonikom koji nastaje u organelama. Vakuolarni flavonoidi, posebno oni u epidermalnim ćelijama, zajedno sa peroksidazama, služe kao skevendžeri za višak absorbovane UV energije (Ryan et al., 2002).

Flavonoidi služe kao hemijski signali za privlačenje oprašivača i životinja koje učestvuju u rasejavanju semena. Obojenost cveta najviše privlači oprašivače a za to su najzaslužniji antocijani, potom žuti flavonoidi (koji se nalaze kod nekoliko vrsta) i bezbojni flavonoidi (različiti flavonoli i flavoni) koji zajedno sa antocijanima povećavaju intenzitet boje cveta ili daju osnovnu boju (kremastu ili boju slonovače) laticama koje bi u suprotnom bile prozirne. U zavisnosti od metilovanja, određenih tipova glikozilovanja ili određenog rasporeda hidroksoidacije A prstena flavonola, takođe, će nastati žuta boja latica agregacijom flavonolnih glikozida u proteinskom matriksu citosola epidermalnih ćelija (Markhami sar. 2001). Određeni flavonoli služe kao UV vodiči za oprašivače, posebno na žutim cvetovima, što je vidljivo pod UV lampom (čulo vida insekata oprašivača registruje različite talasne dužine od ljudskog) (Wijsman, 1983; Sasaki i Takahashi, 2002).

Sinteza flavona, flavanona i flavonola je možda primarno bila vezana za odbrambeni mehanizam biljke (Andersen i Markham, 2005). Kempferol može da poveća količinu semena kod roda *Petunia*, bez obzira da li je povećanje posledica oprašivanja ili povrede (Vogt i sar., 1994). Skorašnja istraživanja ih svrstavaju u novu klasu hormona, jer imaju strukturu delimično sličnu sa aromatičnim steroidima, retinoidima, sa hormonom štitne žlezde, prostaglandinima i sa masnim kiselinama. Posmatranje flavonoida kao signalnih molekula bi svakako objasnilo mnoge njihove funkcije, kako kod biljaka tako i kod ljudi. Ova jedinstvenja utiču na regulaciju auksina, gde se posebno ističu kvercetin, apigenin i kempferol u svom aglikonskom obliku. Ova tri aglikona se vezuju za plazma membranu na mesta vezivanja auksina i na taj način utiču na čitav niz funkcija koje reguliše auksin: od ekspresije gena, preko transporta jona do diferencijacije ćelija i organa (Jacobs i Rubery, 1988).

Poznata je i njihova antimikrobna uloga, i nije čudo što je najveća količina ovih jedinjenja pronađena u omotaču semena (Andersen i Markham, 2005).

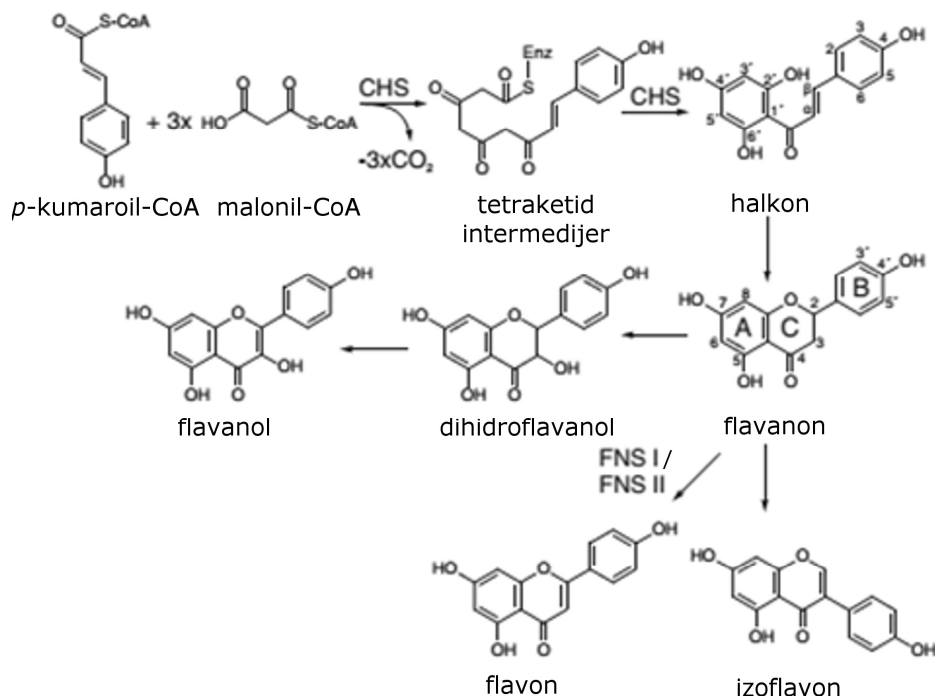
Igraju važnu ulogu u nodulaciji kod leguminoza, gde pomažu uspostavljanju species specifičnog odnosa biljaka i bakterija. Istraživanja (Peters i sar., 1986; Sadowsky i sar., 1988; Recourt i sar., 1991) su pokazala da su geni za biosintezu flavonoida aktivni u zonama

izbijanja novih korenovih dlačica. Kontrola biosinteze je po principu inhibitora i aktivatora

Služe za zaštitu biljke od herbivora, nalaze se na listovima, kao i na korenovima i omotaču semena. Insekticidna aktivnost se postiže na različite načine: deterenti ishrane (Hedin i Waage, 1986), inhibicija digestije (Fahey i Jung, 1989) ili direktna toksičnost (Freeland i sar. 1985). Pokazano je da atraktanti mogu da postanu deterenti u određenim koncentracijama, kod vrste *Trifolium subteraneum* i moljca (*Halotydeus destructor*) genistein je pokazao 93% odbijanja pri koncentraciji 0,08%, 68% pri koncentraciji 0,045% i privlačenje pri koncentraciji od 0,01% (Wang i sar., 1998).

1.2.3. Biosinteza flavonoida (flavanona i flavona)

Biosinteza flavonoida počinje nastajanjem halkona od dva prekursora: 4-kumaroil-koenzimA (4-kumaroil-CoA) i malonoil-CoA, poreklom iz osnovnog metabolizma koji nastaju u fenilpropanoidnom odnosno Krebsovom ciklusu trikarbonskih kiselina (Liu i sar., 2015). Kod nekoliko vrsta biljaka je pokazano da se halkoni dobijaju iz kafeoil-CoA i feruloil-CoA. Halkoni se daljim enzimskim transformacijama prevode u različite flavonoide, bilo da su finalni oblici ili tek prekursori za druga jedinjenja (Slika 1.2.3.1). Enzim koji stvara ovaj C₁₅ skelet je halkon sintaza (HS).



Slika 1.2.3.1. Put biosinteze flavonoida (nacrtano prema Berim i Gang, 2016). CHS: halkon sintaza; FNSI i FNSII: flavon sintaza I i II

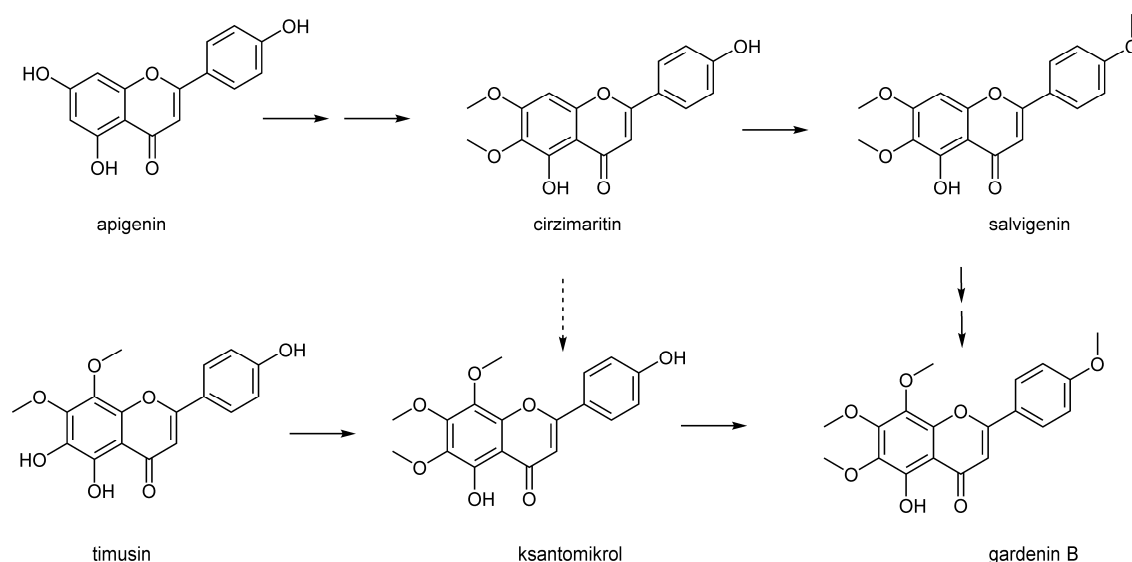
Halkon sintaza vrši serije dekarbosilacije i kondenzacije, koristeći jedan molekul 4-kumaroil-CoA i 3 molekula malanoil-CoA da izgradi poliketidni intermedijer koji zatim prolazi kroz reakcije ciklizacije i aromatizacije čime nastaje A prsten. Halkon sintaza pripada grupi enzima pod nazivom poliketid sintaza (III PKS), ova grupa se javlja kod bakterija, gljiva i biljka. Sve reakcije se dešavaju na jednom mestu vezivanja bez kofaktora (Noel, 2001; Austin i Noel, 2003; Springob i sar., 2003).

Halkon izomeraza (HI) je sledeći enzim u biosintetskom putu. Ona vrši stereospecifičnu izomerizaciju halkona čime nastaju (2S)-flavanoni, zatvara se C prsten, mehanizmom kiselinsko-bazne katalize (Jez i sar., 2000; Jez i Noel, 2002). Sekvenca ovog proteina pokazuje male sličnosti sa poznatim sekvencama proteina. Postoje dva tipa ovog enzima, HI-I tip, mnogo češći, koji koristi substrat 6'-hidroksihalkon i HI-II tip, koji vrši katalizaciju 6'-hidroksi- i 6'-deoksi-halkone. Ovaj drugi tip je uglavnom prisutan kod mahunarki. Sekvence različitih vrsta za isti tip ovog enzima pokazuju više od 70% sličnosti, dok je sličnost sekvenci između ova dva enzima oko 50%. Geni za ove enzime se nalaze u klasterima kod *Lotus japonicus* a prisustvo tandem gena ukazuje na poreklo HI-II duplikacijom gena i divergencijom od prvog tipa enzima. Međutim, reakcija izomerizacije, posebno kod 6'-hidroksihalkona, može da se desi i bez prisustva enzima čime nastaje racemozni (2R,2S) flavanon imale količine antocijanina. Kada je enzim prisutan, reakcija se ubrzava 10^7 (Andersen i Markham, 2005).

Flavon sintaza, koristeći (2S)-flavanon kao substrat, vrši reakciju desaturacije čime nastaje dvostruka veza između C-2 i C-3 na C prstenu. Postoje dva tipa ovog enzima: P450 enzim (FNSII) koji je prisutan kod većine biljaka i 2OGD FNSI enzim prisutan kod Apiaceae. Mehanizam delovanja je *cis*-hidroksilacija na C-3, praćena dehidratacijom (najverovatnije direktnom 2,3-desaturacijom) (Martens i Forkmann, 1999; Martens i sar., 2001; 2003). Ovaj enzim prevodi npr. naringenin u apigenin.

Flavoni su supstrat za veliki broj modifikacija poput glikozilovanje, metilovanje, alkilovanje i sulfonovanje. Glikozilovanje je moguće sa nekoliko šećera, glukozom, galaktozom i ramnozom. Obično je na 3 i 7-hidroksi položajima. Pronađeno je nekoliko enzima koji učestvuju u ovim reakcijama. Neki od njih su vrlo regio- i/ili supstrat specifični (Kramer i sar., 2003). Neki prihvataju veliki broj različitih supstrata pa čak i flavonoidima slična jedinjenja – betalainske pigmente.

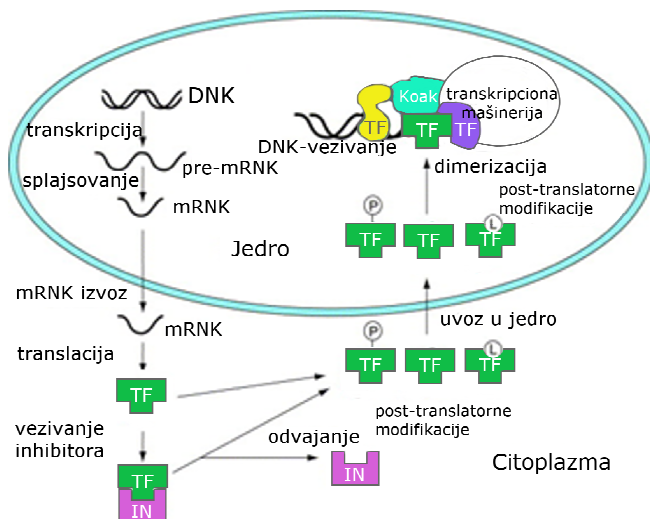
Metilovanje je moguće na svim hidroksilnim grupama (C-5, -6, -7, -8, -2', -3', -4' i -5' položajima) bilo na aglikonima ili glikonima. Neki od ovih enzima pokazuju veliku sklonost ka tipu supstrata i položaju metilovanja. Pokazano je da se bar kod nekih predstavnika porodice Lamiaceae metilovanje vrši u žlezdanim trihomama (Berim i Gang, 2013). Flavon apigenin pod dejstvom enzima koji vrši hidroksilovanje u položaju 5' B prstena prelazi u luteolin, dok enzima koji vrši O-metilovanje u položaju 7 A prstena (ObF7OMTs) daje genkvanin (Slika 1.2.3.3). Takođe, za sada još nedovoljno poznatim biohemijskim putem, apigenin prelazi u skutelarein. Skutelarein i genkvanin su supstrati za dalja metilovanja različitim enzimima. Skutelarein pod dejstvom ObF7OMTs prelazi u skutelarin-7-metoksi, koji dalje može biti metilovan u različitim položajima. Metilovanje na poziciji 4' u B prstenu vrši enzim ObFOMT3 ili ObFOMT5 pri čemu nastaje ladancin, dok enzim ObFOMT4 vrši O-metilovanje u položaju 6 u A prstenu i nastaje cirizimaritin. Pomenuti produkti daju, pod dejstvom već pomenutih enzima, salvigenin od koga može da nastane 4 metilovani gardenin B, za sada, takođe, nedovoljno poznatim putem. Pomenuti enzimi pripadaju grupi flavonoid O-metiltransferaza (FOMT), koje vrše metilovanje flavonoida. Istraživanja rađena na bosiljku su pokazala da 7-O-metilovanje mora da prethodi 6-O-metilovanju. U slučaju da se prvo desilo metilovanje u položaju 6 takvi produkti uglavnom završavaju kao flavonoidi sa slobodnom OH grupom u položaju 7 (Berim i sar., 2012; Berim i Gang, 2013).



Slika 1.2.3.3. Pojednostavljen putev biosinteze flavona: cirzimaritina, ksantomikrola, salvigenina, gardenina B (nacrtano prema Fattahi i sar. 2014 i Berim i Gang, 2016)

1.2.4. Kontrola biosinteze flavonoida

Kontrola sinteze flavonoida, posebno u početnim stadijumima, može da bude pod uticajem sredine, posebno UV svetlosti ili patogena. Najveći broj istraživanja se odnosi na regulaciju ekspresije gena za halkon sintazu (CHS), koja stvara prvi prekursor za ostatak biosintetskog puta.



Slika 1.2.4. Kontrola biosinteze flavonoida, (nacrtano prema Schwechheimer i Bevan, 1998). TF: transkripcioni faktor; Koak: koaktivator; IN: inhibitor; P: fosfat; L: ligand vezujući

mašinerije. Gen-specifičan TF se vezuje za specifičnu sekvencu za motive (*cis*-elemente) sa genima obično u promotoru gena i povećava (aktivator) ili smanjuje (inhibitor) inicijaciju transkripcije (Schwechheimer i Bevan, 1998). Aktivnost TF može biti modulirana nizom mehanizama: kompeticija sa drugim TF-ima, direktna interakcija sa koaktivator ili korepresor proteinima (koji se sami ne vezuju za DNK) i reverzibilna fosforilacija (Slika 1.2.4). Postoji dosta podataka za *cis*-regulatorne elemente i pridružene TF za regulaciju *PAL*, *C4H*, *4CL* i *CHS* kao odgovor na UV svetlost i patogene (Logemann i Hahlbrock, 2002).

UV svetlost i infekcija patogenom imaju različit efekat na stope transkripcije gena. U slučaju infekcije patogenom dolazi do represije sinteze enzima aktivnih tokom UV zaštite. Ako je biljka bila izložena i patogenu i visokom UV zračenju doći će do represije transkripcije gena za sintezu enzima aktivnih tokom UV zaštite (Logemann i Hahlbrock, 2002).

Biosintezi flavonoida prethodi povećanje u transkripciji gena pre nego u translaciji ili nekom post-translatornom koraku, što pokazuju studije flavonoid-vezanih transkripcionih faktora (TF) (Andersen i Markham, 2005). Stope transkripcije specifičnih gena su određene interakcijom specifičnog TF za taj gen sa RNK polimerazom II koja sadrži holoenzim i druge komponente osnovne transkripcione

1.2.5. Dosadašnja istraživanja flavonoida

Istraživanja flavonoida su počela 50-tih godina prošlog veka. U početku su ih smatrali otpadom metabolizma koji se skladišti u vakuoli biljnih ćelija. U to vreme je tek počinjalo istraživanje puteva njihove biosinteze kao i distribucije u biljnom svetu i uloge u obojenosti cvetova. Prvi radovi su uglavnom pisali o metodama ekstrakcije i analize flavonoida, nisu se bavili biološkom ulogom. Krajem 60-tih godina se smatralo da se nalaze isključivo u vaskularnim biljkama, da ih nema kod paprati i mahovina. Međutim, nekoliko godina kasnije, sredinom 70-tih godina dvadesetog veka, pokazali su da su pronađeni kod paprati i mahovina i kod jedne vrste algi (Andersen i Markham, 2005).

Razvoj analitičkih metoda je doneo i veliki napredak na polju identifikacije i izolacije flavonoida, kao i na polju biosinteze. Sredinom 70-tih godina naučnici su počeli da uviđaju značaj fiziološke, metaboličke i evolutivne uloge flavonoida. Upotreba ^{13}C NMR spektroskopije je dovela do najvećeg napretka u utvrđivanju strukture flavonoida, jer je omogućavala da se utvrdi kompletna struktura flavonoida (npr. aglikona i šećernog dela i raspored veza). Takođe, smanjena je količina potrebnog materijala za analizu skoro sto puta.

Novija istraživanja, posebno hemotaksonomska istraživanja koja se bave uporednom analizom distribucije flavonoida kod različitih taksona ili kod različitih jedinki ili populacija u okviru jednog taksona, su olakšana upotrebom savremenih metoda za separaciju i kvantifikaciju složenih smeša flavonoida kao što su kapilarna elektroforeza, HPLC i LC-MS.

Korišćenje molekularnih metoda je omogućilo napredak na polju biosinteze. Različite manipulacije gena dovode do stvaranja mutanata koji govore o funkciji tih gena u proučavanom organizmu (Muzac i sar., 2000; Falcone Ferreyra i sar., 2015; Ogo i sar., 2016).

Flavonoidi su proučavani i proučavaju se iz i sa različitih biljnih organa, tkiva, ćelija i organela kao i sa različitih aspekata: hemotaksonomskog (Barberán, i sar., 1986; Grayer i sar., 1996; 1998; 2002; Marin i sar., 2001; 2003; 2005; Skoula i sar., 2008; Šoštarić, 2012), biosintetskog (Berim i sar., 2012; 2014; 2015; 2016), aspekata biološke funkcije (antioksidativne, antimikrobne); funkcija vezanih za farmakološko dejstvo i funkcija vezanih za njihov doprinos opštem zdravlju ljudskog organizma (Jaime i sar., 2013; Mierziak i sar., 2014).

1.2.6. Varijabilnost i upotreba flavonoida u taksonomskim istraživanjima

Varijabilnost

Flavonoidi su veoma postojana hemijska jedinjenja, posebno površinski aglikoni, što su pokazala istraživanja sa suvim i svežim listovima Valant-Vetschera i sar., 2003. Međutim, postoje razlike u njihovom kvalitativnom sastavu kao posledica različitih ontogenetskih faza (Berberan i Nunez, 1985, Voirin i Bayet 1992, del Baño i sar., 2004, Berim i sar., 2012) i metoda ekstrakcije (Bros i sar. 2009).

Varijabilnosti u kvalitativnom sastavu flavonoida tokom različitih faza razvika biljke ukazuju na puteve njihove biosinteze Voirin i Bayet 1992, del Baño i sar. 2004, Berim i sar. 2012. Pokazano je da se razvićem lista kod *Mentha x piperita* menja kvalitativni sastav površinskih flavona. Povećanjem lisne površine njihova količina se smanjuje: kod listova srednje dužine pebrelin se pokazao kao flavon sa učešćem od 50% u ukupnoj količini flavonoida, međutim, sa starenjem listova njegova količina opada. S druge strane, gardenin B je bio najzastupljeniji u mladim listovima, onda mu je količina opala u srednje starim da bi se opet povećavala u starim listovima. Ovo istraživanje je pokazalo da su i flavoni koji se nalaze ekstracelularno, takođe, podložni daljim enzimskim modifikacijama (Voirin i Bayet 1992). Berim i sar. (2012) su dobili slične rezultate proučavajući listove različite starosti kod bosiljka (*Ocimum basilicum*), koncentracija trihoma-specifičnog jedinjenja je mnogo veća kod mladih listova koji još uvek stvaraju nove epidermalne ćelije i trihome, nego kod već formiranih listova, ova koncentracija opada sa rastom lista. Del Baño i sar. (2004) su proučavajući varijabilnost ukupnih flavonoida u nadzemnim delovima *Rosmarinus officinalis* dobili slične rezultate odnosno promene u kvantitativnom sastavu u zavisnosti od faze ontogenetskog razvika, što ukazuje na potencijalne puteve biosinteze flavona.

Taksonomski značaj kod Lamiaceae

Istraživanja flavonoida kao taksonomskih markera kod predstavnika familije Lamiaceae su počela sredinom 80-tih godina prošlog veka. U početku su to bila istraživanja određenih “problematičnih” rodova kao što su *Teucrium* (Harborne i sar. 1986), *Thymus* (Hernandez i sar. 1987), *Thymbra* (Barberan i sar. 1986). Prvi rad koji se bavio distribucijom metilovanih flavona na nivou podfamilije Nepetoideae objavljen je 1988. (Barberan i sar. 1988^b), gde je pokazano da su neki (timonin i 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe flavon) široko rasprostranjeni među taksonomski bliskim vrstama *Acinos*, *Micromeria*, *Satureja*, *Calamintha*,

Mentha, *Thymbra*, *Thymus* i *Origanum*, dok se drugi kao što su timusin, pebrelin, 5,6-diOH-7,8,3',4'-tetraOMe, ladanein i 5,6-diOH-7,3',4'-triOMe flavon nalaze retko i samo kod određenih vrsta. Ovi radovi su pokazali da određeni rodovi imaju specifičan kvalitativni sastav površinskih flavonoida, što ukazuje na informativnost ovih jedinjenja kao hemotaksonomskih markera. Dalja istraživanja u okviru familije Lamiaceae posebno nekih rodova u okviru dve podfamilije Lamioideae i Nepetoideae su pokazala da postoji razlika u profilima flavonoida između ove dve podfamilije. Podfamilija Lamioideae ima mnogo manji broj predstavnika koji imaju površinske flavonoide od podfamilije Nepetoideae. Najzastupljeniji na površini su flavoni dok su flavonoli mnogo ređi. Flavoni koji su dodatno oksidovani na A prstenu na poziciji C-6 i/ili C-6 i C-8 su široko rasprostranjeni dok su oni oksidovani samo na poziciji C-8 pronađena samo kod roda *Scutellaria* spp. (vogonin) i kod vrste *Salvia glutinosa* (herbacetin 3,8,4'-triMe etar). Metilovanje je najčešće u položaju (4'-) ili (3',4'-) u B prstenu. Samo kod *Scutellaria* spp. su pronađeni flavoni koji imaju nesupstituisani kao i trisupstituisani B prsten metil grupom. Obe podfamilije sintetišu 5-OH-6,7-diMe i 5-OH-6,7,8-triMe flavone, međutim, prisustvo 5,7-diOH-6-OMe flavona sa substitucijom na B prstenu je odlika podfamilije Nepetoideae, posebno rodova *Salvia*, *Rosmarinus* i *Ocimum* spp., zastupljenost 5,6-diOH-7,8-diOMe flavona je ograničena na podtribus Menthinae (*Thymus*, *Satureja*, *Micromeria*, *Clinopodium* (*Acinos*, *Calamintha*), *Origanum* i *Mentha*). Akumulacija ovih jedinjenja na površini listova je jedan od mehanizama prilagođenosti životu na sušnim i insoliranim staništima, međutim, nije jedini. Pored akumulacije flavonoida na površini listova, prisutan je takođe, i gusti indumentum, razvijeni epikutikularni voskovi kao i žlezdane trihome bogate etarskim uljima. Ovi mehanizmi su uglavnom u sinergiji, ipak, kod nekih vrsta jedan isključuje ili smanjuje druge (Barberán i sar., 1990; Valant-Vetschera i sar., 2003).

Profili površinskih flavonoida mogu da budu korisni za detekciju hibrida jer hibridi imaju profil koji je između profila roditeljski vrsta (Ferreres i sar. 1989; Lorente i sar. 1988; Voirin i sar. 1999).

Pregled taksonomskih istraživanja na osnovu flavonoida kod Lamiaceae

Taksonomska istraživanja rodova u okviru familije vršili su Barberán i Wollenweber, 1990; Barberán i sar. 1988^b; Valant-Vetschera i sar. 2003; Ulubelen i sar. 2005.

Proučavani rodovi podfamilije Lamioideae su: *Plectranthus* (Grayer i sar. 2010), *Sideritis*

(Lorente i sar. 1988; Barberán i sar. 1988^a, 1993; Gil i sar. 1993; Janeska 2007), *Teucrium* (Harborne i sar 1986).

U okviru ove familije najveći broj taksonomskih istraživanja je proučavao podfamiliju Nepetoideae, posebno često su proučavani komercijalno korišćeni rodovi kao što su *Salvia* (Nikolova i sar. 2006), *Phlomis* (Marin i sar. 2007) *Ocimum* (Grayer i sar. 1996^a, 1996^b, 2001, 2002, 2004; Vieira i sar. 2001, 2003), *Origanum* (Skoula i sar. 2008), *Lavandula* (Upson i sar. 2000), *Mentha* (Marin i sar. 1990; Voirin i sar. 1994, 1999), *Thymus* (Hernandez i sar. 1987; Marin i sar. 2002, 2003, 2005; Horwath i sar. 2008; Šoštarić 2012), *Satureja* (Marin i sar. 2002, 2003; Skoula i sar. 2005), *Micromeria* (Barberán, 1991^a; Marin i sar. 1996 i 2001), *Calamintha* (Marin i sar. 2001).

1.2.7. Dosadašnja istraživanja flavonoida kod vrsta roda *Satureja*

Vrste ovog roda su u najvećem broju proučavane sa aspekta ukupnih flavonoida i njihove biološke aktivnosti (Mihaljev, 2011; Primorac, 2011; Lopez-Cobo i sar. 2015; Tepe i Cilkiz 2016). Zbog različitih metoda izolovanja jedinjenja rezultati nisu uporedivi.

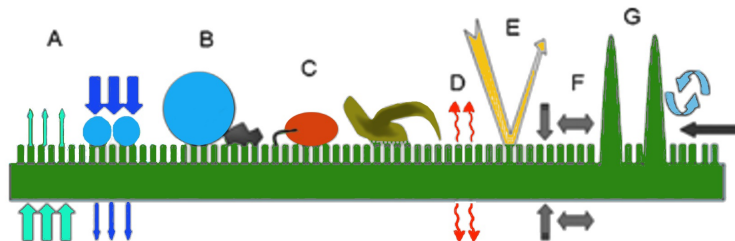
Mnogo manji broj radova se bavio površinskim flavonoidima i njihovim hemotaksonomskim značajem (Barberán i sar. 1988^b; Wollenweber i Valant-Vetschera 1991; Marin i sar. 2002, 2003; Skoula i sar. 2005; Malmir i sar. 2015). Barberán i sar. (1988^b) su proučavali površinske flavonoide na predstavnicima familije Lamiaceae (iz ovog roda su proučavali *Satureja* spp., *S. thymbra*, *S. salzmannii* i *S. obovata*) i primetili su da 5,6-diOH-7,8-diOMe flavoni prisutni kod predstavnika podtribusa Menthinae. Wollenweber i Valant-Vetschera (1991) su proučavali sastav površinskih flavonoida kod *S. montana* iz Makedonije, Skoula i sar. (2005) kod *S. thymbra* i *S. spinosa* iz Grčke, a Malmir i sar. (2015) kod *S. khushestanica* iz Irana i pronašli su prisustvo oko 23 flavonoida (18 flavona i 5 flavanona). Svaka od pomenutih vrsta je imala drugačiji profil površinskih flavonoida, neki flavonoidi su bili zajednički za više vrsta, posebno flavanoni (naringenin, aromadendrin i taksifolin) i neki flavoni (apigenin, cirsimaritin, ksantomikrol, genkvanin, timonin i timusin). Proučavani su spoljašnji flavoni kod vrsta *S. horvatii* i *S. visianii*. *S. cuneifolia* i *S. adamovicii* (Marin i sar. 2003, 2002).

Pregled literature je pokazao da površinski flavonoidi vrsta roda *Satureja* sa prostora Balkana nisu detaljnije rađeni sa hemotaksonomskog aspekta.

1.3. Alkani

1.3.1 Epikutikularni voskovi

Epikutikularni voskovi se nalaze na površini zaštitnog hidrofobnog biljnog omotača, kutikule. Formiranje ovog omotača je omogućilo biljkama izlazak iz vodene sredine na



Slika 1.3.1.1. Zaštitne karakteristike kutikule: a) barijera transpiracije; b) sprečavanje kvašenja; c) samo-čišćenje; d) signalna uloga; e) zaštita od štetnog zračenja, f) odupiranje mehaničkim oštećenjima; g) smanjenje temperature površine; (nacrtano prema Koch i sar. 2008).

kopno pre oko 460 miliona godina. Kutikula je kontinuirana ćelijska membrana koja pokriva sve nadzemne organe: cvetove, stabljike, listove, plodove i semena biljaka. Samo rizoidi nekih mahovina i sekundarna biljna tkiva kao što su

drvo i kora nemaju ovaj omotač (Koch i sar. 2008). Ona je ključni multifunkcionalni omotač koji predstavlja najveću kontaktnu zonu između biosfere i atmosfere, prekrivajući više od $1.2 \times 10^9 \text{ km}^2$ (Jetter i Riederer, 1995). Kutikula ima višestruke zaštitne karakteristike, kao što su sprečavanje kvašenja površine, smanjene lepljivosti površine, samo-čišćenje: smanjenje kontaminanata, napada patogeni i kretanja insekata; signalnu ulogu: znakovi za prepoznavanje domaćin-patogen; zaštita od štetnog zračenja; mehanička uloga: zaštita od mehaničkih oštećenja i održavanje fiziološkog integriteta; potrebna je za razviće epidermalnih ćelija; smanjenje površinske temperature i možda najznačajniju – barijeru u transpiraciji (Slika 1.3.1.1) (Bargel i sar. 2006).

Zbog svojih važnih uloga za život biljke počinje da se formira već u ranim stadijumima razvika biljnih tkiva, već prvi slojevi se formiraju u embrionu i vidljivi su na mestu odvajanja kotiledona (Walton, 2005). Kutikula je izgrađena od nekoliko slojeva koji se naslanjaju na ćelijski zid. Prvi sloj iznad ćelijskog zida je sloj pektina (kod nekih vrsta); zatim ide sloj kutikule, koga čine kutin (hidroksi- i hidroksi-epoksi masne kiseline C_{16} i C_{18}), intrakutikularni voskovi (amorfna mešavina lipida uronjena u kutin), u ovaj sloj zalaze polisaharidi ćelijskog zida (fibrile); iznad njega je sloj kutikularnih lamela (nerastvorljiv sloj),

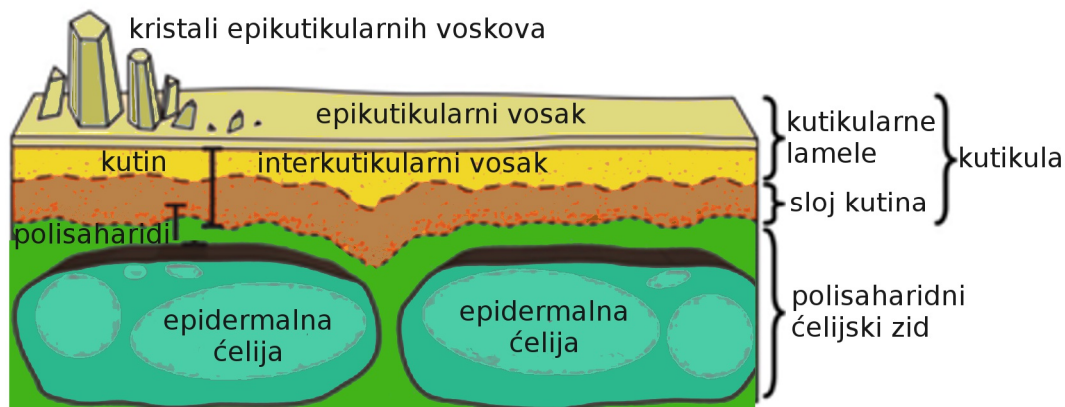
sastavljen od kutina (znatno ređe od kutana, čija struktura i funkcija još uvek nisu dovoljno poznate), kovalentno poprečno povezanog polimera i interkutikularnih voskova (Slika 1.3.1.2). Epikutikulani voskovi se nalaze na ovom poslednjem sloju kutikule, to su površinski lipidi koji formiraju kristaloide (zelenkastoplavi ili plavi omotači plodova šljive, grožđa ili listova kupusa) ili gladak film (sjajan, gladak izgled mnogih listova i plodova, npr. *Magnolia grandiflora*) (Holloway 1994, Jeffree, 1996, Kunst i Samuels, 2003, Riederer i Muller, 2008).

Sastav epikutikularnih i intrakutikularnih voskova se razlikuje. U sastav epikutikularnih voskova ulaze uglavnom alifatična jedinjenja dugog lanca, *n*-alkani (C_{21} - C_{35}), sekundarni alkoholi (C_{21} - C_{35}), ketoni (C_{21} - C_{35}), aldehidi (C_{21} - C_{35}), masni alkoholi (C_{22} - C_{34}), masne kiseline (C_{16} - C_{34}) i estri voskova (C_{32} - C_{64}), dok u sastav intrakutikularnih voskova mogu da uđu i ciklična jedinjenja kao što su pentaciklični triterpeni. Pored ovih jedinjenja u sastav kutikularnih voskova mogu da uđu i flavonoidi i steroli (Jetter i Schaffer, 2001, Kunst i Samuels, 2003).

Količina epikutikularnih ili površinskih voskova se kreće od $0,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ kod listova *Morus alba* (Mamrutha i sar. 2010) pa do nekoliko mg/cm^2 , kod listova palme *Copernicia cerifera* (izvor karnauba voska) i *Syagrus coronata* koje žive u suvim delovima severno-istočnog Brazila (Riederer i Muller, 2008).

Epikutikularni voskovi grade 3-D strukture (kristale - kristalne projekcije), koje variraju u veličini od $0,5$ do $100 \mu\text{m}$, dok 2-D strukture (filmovi) imaju debljinu koja se kreće od nekoliko slojeva molekula do $0,5 \mu\text{m}$. Prema mikro-morfološkim strukturama koje grade epikutikularni voskovi su podeljeni na nekoliko tipova. Razlikujemo 6 glavnih kategorija, prema izgledu pozadinskih epikutikularnih voštanih filmova koji pokrivaju površinu kutikule između i ispod 3-D kristala i samih 3-D kristala (Jeffree i sar. 2006) ili 23 kategorije prema hemijskim i morfološkim karakteristikama kao i orijentaciji i šemi voskova (Barthlott i sar. 1998). Najčešći tipovi morfologija voskova su tanki filmovi i nekoliko 3-D struktura kao što su masivna kora, pljosnate ležeće ploče, uspravni stojeći diskovi, filamenti, tubule i cevčice (Koch i sar. 2008). Smatra se da ove voštane strukture nastaju sponatnom kristalizacijom molekula koji ulaze u sastav voska. Ovo je pokazano eksperimentima gde su površinski voskovi uklonjeni sa kutikule i ponovo rekristalizovani u strukture koje su i viđene na biljkama (Jeffree i sar. 1975; Jetter i Riederer, 1995; Koch i sar. 2004.). Međutim, pored hemijske strukture voskova, koja ima formativni ali ne i konačan

uticaj, i supstrat na kome kristal raste ima uticaja na finalnu formu (Koch i Barthlott, 2006). U *in vitro* uslovima izolovani nonakozan-10-ol kristalizuje u tubule dok pri različitim uslovima kristalizacije daje različite morfološke oblike (Jetter i Riederer, 1994).



Slika 1.3.1.2. Slojevi kutikule i 3-D strukture epikutikularnih voskova (nacrtano prema Yeats i Rose, 2013)

1.3.2. Biološka uloga epikutikularnih voskova

Epikutikulani voskovi kao poslednji sloj na površini biljnih organa imaju važne funkcije za razvoj i život biljaka kao što su sprečavanje preterane transpiracije (Kerstiens, 1996; Riederer i Schreiber, 2001; Ristic i Jenks, 2002; Oliveira i sar. 2003; Jetter i Riederer, 2016), zaštita od prekomernog UV zračenja (Riederer i Muller, 2008), zaštita od herbivora i patogeni (Knoll i Schreiber, 2000; Gorb i Gorb, 2002), privlačenje oprašivača (Martin i sar. 2011), uloga u razvoju biljnih organa (Preuss i sar. 1993; Riederer i Muller, 2008), samočišćenje (Barthlott i Neinhuis, 1997; Koch 2008; Riederer i Muller, 2008).

Sprečavanje nekontrolisanog gubitka ili uzimanja vode putem epidermisa zbog samog sastava epikutikularnih i interkutikularnih voskova. Na listovima osam različitih vrsta biljaka pokazano je da u zavisnosti od sastava samog sloja voska, bilo interkutikularnog bilo epikutikularnog, zavisi položaj barijere transpiracije. U slučaju kada se u interkutikularnom sloju nalaze alifatična ciklična jedinjenja (triterpenoidi, steroidi ili tokoferoli) oni sa 50% učestvuju u stvaranju barijere dok ostatak grade epikutikularni voskovi koji su sačinjeni samo od derivata masnih kiselina veoma dugog lanca. Međutim, kod vrsta kod kojih nema ovih cikličnih jedinjenja u interkutikularnom sloju, već su prisutni samo derivati masnih kiselina, barijera se nalazi potpuno u ovom sloju (Jetter i Riederer, 2016). Veliki broj

istraživanja se bavio ulogom kutikule i epikutikularnih voskova kao barijere transpiraciji (Kerstiens 1996; Riederer i Schreiber 2001; Ristic i Jenks 2002; Oliveira i sar. 2003).

Zaštita od prekomernog svetlosnog zračenja i UV zračenja. Fotosinteza zavisi od složenog i osetljivog rasporeda pigmenta, proteina i membranskih kompartmenata, koji se lako mogu oštetiti svetlom jakog intenziteta. Gust prekrivač epikutikularnih kristala voska povećava rasipanje (difrakciju) i refleksiju svetlosti do granice stepena podnošljivosti fotosintetički aktivnog tkiva u unutrašnjosti lista. Prekomerno UV zračenje dovodi do oštećenja fotosintetskog aparata i drugih vitalnih delova ćelije (Riederer i Muller, 2008). Pokazano je da ukupni izolovani epikutikulani voskovi kukuruza apsorbuju značajne količine UV zračenja, isto važi i za listove (listovi sa voskovima su apsorbivali više od onih sa malom količinom voskova), što ukazuje da voskovi služe kao zaštita od prekomernog UV zračenja (Long i sar. 2003).

Odbrana od patogena i insekata. Kutikula, zbog hidrofobnosti kutina i voskova, formira efikasnu barijeru za transport vode i polarnih supstanci, takođe, smanjena kvašljivost listova sprečava curenje jedinjenja iz unutrašnjosti lista, što sve ima za posledicu smanjenu količinu nutrijenata za ishranu mikroorganizama na površini listova (Knoll i Schreiber, 2000). Međutim, bez obzira na to veliki broj bakterija kolonizuje biljke što ukazuje da su molekuli bogati nutrijentima i energijom dovoljni za velike mikrobiološke populacije. Najčešća mesta kolonizacije bakterija su osnove trihoma, stoma i mesta spajanja ćelijskih zidova epidermalnih ćelija (Yadav i sar. 2005). Epikutikulani voskovi mogu insektima da otežaju ili onemoguće kretanje po površini lista. Proučavanje kretanja *Chrysolina fastuosa* po različitim površinama lista su pokazala da kristali voska sprečavaju pričvršćavanje insekta. Predložene su četiri moguće hipoteze: 1) grubost površine: zbog male veličine kristala voska površina kontakta između podloge (površine lista) i vrhova čekinja insekta je veoma mala, što ima za rezultata smanjeno prijanjanje insekta; 2) kontaminacija prijanjajućih jastučića na nogama insekata: kristali voska su veoma erozivne strukture i mogu da kontaminiraju lepljive nožice čime se smanjuje kontaktna površina pri svakom sledećem koraku; 3) rastvaranje voskova: sekret koji luče prijanjajući jastučići na nogama insekata sadrži neisparljiva, lipidima slična jedinjenja koja mogu da razlože kristale voska čime nastaje debeo sloj fluida koji smanjuje trenje i prijanjanje insekta; 4) adsorpcija tečnosti: kristali voska zbog kapilarnih sila mogu da adsorpuju pomenute sekrete koje luče insekti i na taj način smanje silu prijanjanja (Gorb i Gorb, 2002). Takođe, sastav

epikutikularnih voskova može da utiče na privlačenje ili odbijanje insekata. Istraživanja rađena sa biljnim vašima na dva klona topole su pokazala da su biljne vaši napadale klonove koji su imali manju količinu *n*-alkana, posebno heksakozana (Martin i sar. 2011).

Sprečavanje zadržavanja vode na površini biljke i kontrola nakvašivosti, takođe, poznat i kao "lotosov efekat". Biljkama je, kao i drugim organizmima, voda neophodna za život, međutim zadržavanje vode na listovima ima negativne efekte, dovodi do curenja jona i polarnih organski rastvorljivih supstanci iz unutrašnjosti biljke ili do razvoja povoljnih uslova za život patogenih mikroorganizama. Drugi aspekt koji vrše epikutikularni voskovi je samo-čišćenje površine lista od različitih mikroskopskih čestica kao što je aerosol, prašina, spore i mikrobi, zahvaljujući fizičko-hemijskim osobinama nekih lisnih površina i kapljicama vode koje čiste kontaktnu površinu (Riederer i Muller, 2008). U zavisnosti od 3-D struktura koje grade epikutikularni voskovi, doći će do manjeg ili većeg razlivanja kapljice vode. Što je površina hrapavija biće i hidrofobnija jer će kapljica imati savršeniji oblik sfere i time će imati manju kontaktnu površinu sa listom a veću kinetičku energiju i na taj način će da sakupi čestice koje joj se nađu na putu (Barthlott i Neinhuis, 1997; Koch 2008).

Uloga u kontroli razvoja biljnih organa kao i u polen-žig interakciji. Kutikula ima ključnu ulogu u razvoju biljnih organa ima ulogu u odvajanju organa u procesu razvoja. Mutanti koji imaju oštećenu kutikulu pokazuju povećan gubitak vode i u isto vreme razne morfološke abnormalnosti, kao što je fuzija organa (Riederer i Muller, 2008). Veoma je važna i uloga epikutikularnih voskova u interakciji polen-žig tučka jer omogućava klijanje polenove cevi, odnosno, samo ona polenova zrna će klijati koja imaju omotač od epikutikularnih voskova (Preuss i sar. 1993).

1.3.3. Biosinteza epikutikularnih voskova

Epikutikularne voskove sintetiše endoplazmatični retikulumu (ER) u ćelijama epidermisa (Slika 1.3.3). Prekursori za njihovu sintezu, masne kiseline dugog lanca C_{16} i C_{18} , potiču iz leukoplasta (Yeats i Rose, 2013).

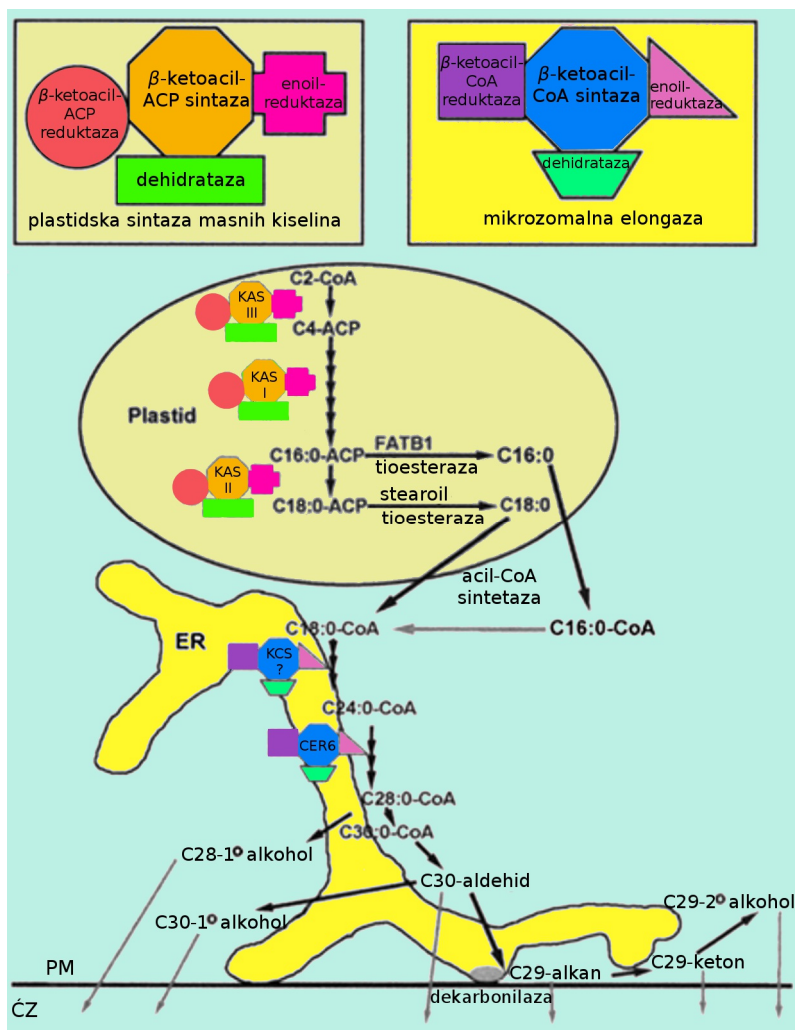
Prvo dolazi do *de novo* sinteze masnih kiselina C_{16} i C_{18} u leukoplastima, lociranim u epidermalnim ćelijama pomoću FAS kompleksa (*fatty acid synthases*, sintaze masnih kiselina) sačinjenog od 4 rastvorljiva odvajajuća enzima. Potrebna su 2 ili 3 različita FAS kompleksa da bi se sintetisali lanci C_{16} i C_{18} . Ovi kompleksi se međusobno razlikuju po kondenzujućim enzimima koji imaju strogu preferencu prema acil-lancu određene dužine ketoacil ACP

sintaze III (KASIII) (C_2 do C_4), KASI (C_4 do C_{16}) i KASII (C_{16} do C_{18}) (Yeats i Rose, 2013).

Zatim dolazi do elongacije C_{16} i C_{18} u ER u masne kiseline veoma dugog lanca C_{20} do C_{34} . Međutim, da bi se ovo desilo C_{16} i C_{18} masne kiseline moraju da se prebace iz plastida u ER, što znači da se oslobode ACP-a, pomoću acil-ACP tioesterase i da se vežu za CoA, pomoću acilCoA sintetaze (LACS). Smatra se da enzim LACS ima ulogu i u transportu masnih kiselina između plastida i ER (Pulsifer i sar. 2012). Ovaj korak je važan jer će se deo sintetisanih masnih kiselina koristiti za sintezu lipida kutikule a drugi deo će učestvovati u sintezi glikolipida membrane epidermalne ćelije. Ekstenziju lanaca u veoma duge lance (VLCFA, very long chain fatty acids) vrše FAE (fatty acid elongases, elongaze masnih kiselina) – multienzimski kompleksi koji se nalaze na membrani ER (Kunst i Samuels, 2003, Zheng i sar. 2005). Slično sintezi lanaca masnih kiselina u plastidima, i ovde se lanac produžuje za po dva ugljenikova atoma u svakom ciklusu, međutim, ovde je donor C_2 malonil-CoA.

Cikluse elongacije vrše kompleksi kondenzujućih enzim KCS (β -ketoacil-CoA sintaza) koji imaju specifične preference prema određenoj dužini lanca (von Wettstein-Knowles, 1982, 1993). KCS specifičan za sintezu voskova je CER6 koji vrši elongaciju lanaca dužih od C_{22} . Pored ovih enzima deo FAE su: KCR (β -ketoacil-CoA reduktaza), CER10 koji pripada ECR-ama (enol-CoA reduktaza) i PAS2 (β -hidroksiacil-CoA dehidrataza) (Yeats i Rose, 2013). Dodatni enzimi CER2, CER26 i CER26-like su potrebni za sintezu lanaca dužih od C_{28} (Haslam i Kunst, 2013, Pascal i sar. 2013).

Poslednja faza je modifikacija masnih kiselina veoma dugog lanca u glavne komponente voskova, alkohole, estre, aldehide, alkane i ketone (Samuels i sar. 2008). Ova faza se deli na dva puta, jedan koji daje primarne alkohole i estre voskova, koji imaju parni broj ugljenikovih atoma (acil- redukujući put) i drugi koji daje alkane, sekundarne alkohole i ketone, tj. lance sa neparnim brojem ugljenikovih atoma (dekarboksilacioni put).



Slika 1.3.3. Biosinteza alkana, prilagođeno prema (Kunst i Samuels, 2003); ER: endoplazmatični retikulum; PM: plazma membrana; ČZ: ćelijski zid

sar. 2009). Ova činjenica ukazuje da je konverzija unutarćelijskog rezervoara slobodnih VLCFA-a nazad u VLCFA-CoA važan put za nastanak aldehida i alkana, više nego direktna konverzija produkata FAE. Kompleks enzima CER1 i CER3 u kombinaciji sa citohromom b_5 (donorom elektrona) katalizuje redukciju i dekarboksilaciju VLCFA-CoA i dolazi do nastanka alkana (Yeats i Rose, 2013). Alkani mogu biti dalje modifikovani u sekundarne alkohole i ketone pomoću enzima MAH1 (Greer i sar. 2007).

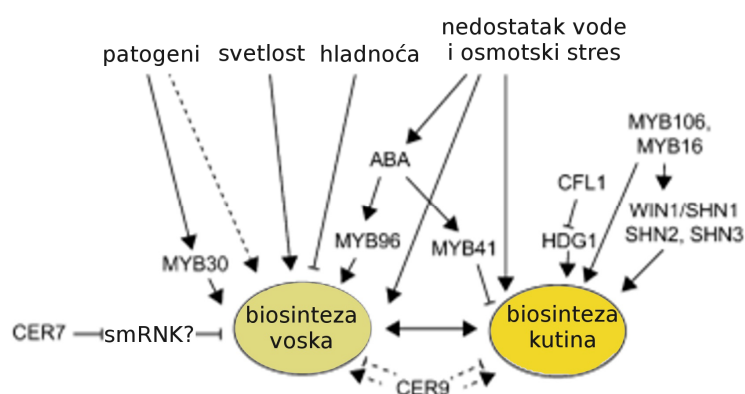
Transport alkana iz ER do plazma membrane (PM) nije još uvek poznat. Predložena su dva puta transporta, prvi, bez vezikula, direktno kroz PM u delovima koji su veoma blizu membrani ER (oko 10 nm udaljeni) tzv. PAM-ovi (PM-associated membranes, PM povezane membrane). Smatra se da su ovi delovi bogati proteinima za transport lipida.

Sinteza alkana je deo dekarboksilacionog puta koji se odvija u ER i počinje od gubitka jednog C atoma od acil-prekursora (VLCFA C_{20} - C_{34}) gubitkom CO grupe (dekarboksilacija) preko aldehidnog intermedijera (Cheesbrough i Kolattukudy, 1984, Schneider-Belhaddad i Kolattukudy, 2000). Pokazano je da enzim LACS1, pored uloge u vezivanju masnih kiselina dugog lanca C_{16} i C_{18} za CoA, ima specifičnost i ka masnim kiselinama veoma dugog niza C_{30} i neophodan je za sintezu kranjih produkata (Lü i

Drugi put je pomoću vezikula Goldžijevog aparata. Voskovi prolaze kroz PM pomoću ABC (ATP binding cassette, ATP vezujuća kaset) transporter. Poznati ABC transporter su CER5 i WBCII (white-brown complex). WBC su polutransporter koji je potrebna dimerizacija da bi funkcionisali, najverovatnije sa CER5 transporterom (Samuels i sar. 2008). Sledeća prepreka koju moraju da savladaju na putu ka kutikuli je hidrofilni ćelijski zid. Najverovatnije pomoću GPI (glycosylphosphatidylinositol) usidrenih LTP-ova (lipid-transfer proteins). LTG1 i LTG2 su vezani su za vanćelijsku stranu plazma membrane a čine ih mali rastvorljivi proteini sa hidrofobnim džepom koji vezuje masne kiseline dugog lanca *in vitro* (DeBono i sar. 2009, Lee i sar. 2009, Kim i sar. 2012).

1.3.4. Kontrola biosinteze alkana

Biosinteza voskova je pod strogom transkripcionom kontrolom i odgovara kako na razvojne tako i na sredinske uticaje (patogeni, svetlo, hladnoća, nedostatak vode i osmotski stres) (Slika 1.3.4).



Slika 1.3.4. Regulacija biosinteze kutikule, prikazani su faktori i regulatorni gen, (nacrtano prema Yeats i Rose, 2013); ABA: abscisinska kiselina;

Prilikom rasta biljke aktivni su geni koji kodiraju biosintetske enzime *CER2* i *CER6*. Transkripcija gena *CER6* je aktivirana i sredinskim faktorima kao što su svetlo i osmotski stres (Hooker i sar. 2007) dok ovi faktori nemaju uticaja na transkripciju *CER2* (Xia i sar. 1997).

Transkripcioni faktori koji utiču na sintezu voskova pripadaju WAX INDUCER (WIN)/SHINE porodici kod *Arabidopsis*-a i WAX PRODUCTION 1 (WXP1) kod *Medicago truncatula*. Prekomerna ekspresija WIN1/SHN1 proteina dovodi do aktivacije nekoliko gena vezanih za sintezu voskova, *CER1*, *CER2* i *KCS1*. Takođe utiču na enzime i proteine koji učestvuju u ćelijskom transportu uključujući i neidentifikovani ABC transporter (Aharoni i sar. 2004, Broun 2004). WIN1/SHN1 prvo aktiviraju gene koji

učestvuju u sintezi kutina, kao što je *LACS2*, direktnim vezivanjem za ciljani promoter gena (target gene promoter). Aktivacija gena za biosintezu voskova kasni za genima koji učestvuju u sintezi kutina, što ukazuje da su potrebni još neki transkripcioni faktori koji deluju nishodno od *WIN1/SHN1* ili da su aktivirani na sličan način kao i oni za kutin ali da je aktivacija sporija. Mogu i indirektno da utiču na sintezu voskova uticanjem na sastav i količinu proizvedenog kutina koji ima drugačije fizičke osobine. Ova promena kutina, verovatno putem pomognutog transporta signalnih molekula, dovodi do aktivacije sinteze voskova (Kannangara i sar. 2007).

Transkripcioni faktori MYB106 i MYB16 regulišu ushodno i direktno aktiviraju, *WIN1/SHN1* i neke biosintetske gene (Oshima i sar. 2013). MYB30 je aktiviran tokom infekcije patogenih bakterija čime se ushodno reguliše nekoliko gena FAE kompleksa (Raffaele i sar. 2008). MYB96 je ABA aktivirani transkripcioni faktor prilikom suše (Seo i sar. 2011), reguliše biosintezu i transport voskova. Direktno se vezuje za promotore gena koji kodiraju enzime za elongaciju masnih kiselina FAE (*KCS1*, *KCS2*, *KCS6*, *KCR1*, *KCR*, *ECR* i *PAS2*) koji su ushodno regulisani čime su nishodno aktivirani enzimi koji vrše sintezu voskova *CER3* i CYTOCHROME P450 96 A1 (*CYP96A15/MAH1*), dekarbonilacioni put i *CER4* i *WSD1*, acil- redukcioni put. Pored ovih gena ushodno su regulisani i geni koji kodiraju LTP-ove, ABC i WBC11 transportere (Seo i Park, 2011).

CER7 ribonukleaza je glavni faktor u regulatornom putu koji kontroliše akumulaciju kutikularnih voskova kod *Arabidopsis*-a. Ova ribonukleaza u epidermalnim ćelijama ima dodatnu jedinstvenu ulogu u degradaciji mRNA koja kodira represor transkripcije biosintetskog gena *CER3* (Hooker i sar. 2002).

Prilikom razvoja organa sinhronizovana je akumulacija kutina i voskova, što ukazuje na koordinisanost sinteze i transporta ovih jedinjenja. GPAT5 (glycerol 3-phosphate acyltransferase 5) je acil-transferaza koja učestvuje u sintezi alifatičnog suberina i voskova u korenu *Arabidopsis*-a. Nalazi se u istim subćelijskim kompartmentima i u kompeticiji je sa biosintetskim enzimima voskova za VLCFA-CoA (Li i sar. 2007).

1.3.5. Dosadašnja istraživanja alkana

Alkani su kao grupa veoma stabilnih jedinjenja istraživani sa različitih aspekata. Korišćeni su kao markeri u eksperimentima sa ishranom herbivora (Dove i Mayes, 1991; Ali i sar. 2005; Anderson, 2005), paleobotaničkim istraživanjima kao indikatori sastava

vegetacije (Briggs i Lockheart, 2000; Tarasov i sar. 2013), geološkim (Wei i Jia, 2009) i u geoklimatskim istraživanjima (Percy i Baker, 1990; Dodd i Poveda, 2003; Schefuß i sar. 2003; Sachse i sar. 2004), kao i u hemotaksonomskim istraživanjima na različitim taksonomskim nivoima (Gülz, 1994; Maffei, 1996a; 1996b; Palic i sar. 1999; Jovanović i sar. 2015; Rajčević, 2015).

1.3.6. Varijabilnost i alkana i njihov značaj u taksonomskim istraživanjima

Alkani, iako su vrlo postojana hemijska jedinjenja, pokazuju određenu varijabilnost u zavisnosti od abiotičkih i biotičkih faktora što na određeni način povećava ili smanjuje njihov hemotaksonomski značaj.

Varijabilnost

Faktori koji utiču na kvantitativnu i kvalitativnu varijabilnost alkana su: različite faze razvića, mladi listovi u odnosu na stare listove imaju isti kvalitativni ali različit kvantitativni sastav (Prasad i Gülz, 1990; Jetter i Schäffer, 2001; Richardson i sar. 2005; Roy i sar. 2012); sezonska varijabilnost (Gülz i sar. 1991; Gülz i Boor, 1992; Gülz i Müller, 1992; Jenks i sar. 2002), različiti delovi biljke (listovi, stabljika, cvetovi) imaju različit sastav površinskih voskova (Dove i sar. 1996; Smith i sar. 2001).

Sredinski faktori koji utiču na varijabilnost su suša (Oliveira i sar. 2003), patogeni (Yadav i sar. 2005), UV zračenje (Dodd i Afzal-Rafii, 2000).

Alkani pokazuju varijabilnost i između različitih taksonomskih nivoa i između različitih populacija. Ova varijabilnost je veoma informativna i odgovara taksonomskim podelama na osnovu morfoloških karaktera. Međutim, u nekim slučajevima varijacije u sastavu nisu dovoljno informativne (Maffei, 1994).

Taksonomski značaj

Hemotaksonomska istraživanja su pokazala da iako epikutikularne voskove čine i druge grupe jedinjenja (alkoholi, aldehidi, ketoni estri masnih kiselina), su alkani najvažniji markeri na različitim taksonomskim nivoima. Eglinton i sar. (1962) su prvi primetili njihovu primenu u sistematici jer ispunjavaju sledeće uslove: univerzalno su prisutni kod biljaka, postoji varijabilnost sastava između vrsta, jednostavno se izoluju i lako analiziraju. Korišćeni su kao hemotaksonomski markeri kod reda Pinales (Maffei i sar. 2004), različitih

familija cvetnica: Solanaceae (Maffei, 1994; Zygadlo i sar. 1994.), Lythraceae (Rocini i sar. 2006), Poaceae (Tulloch, 1981, Maffei, 1996a), Apiaceae, Brassicaceae i Fabaceae (Maffei, 1996b), Lamiaceae, Boraginaceae, Verbenaceae, Scrophulariaceae (Maffei, 1994), Velloziaceae (Salatino i sar. 1989), kao i na mnogim drugim taksonomskim nivoima kod skrivenosemenica i golosemenica (Gülz i sar. 1987; 1991; 1992; Turunen i sar. 1997; Mimura i sar. 1998; Palic i sar. 1999; Wissemann, 2000; Cameron i sar. 2002; Knight i sar. 2004; Nikolić i sar. 2010, Jovanović sar. 2015; Rajčević, 2015).

Taksonomski značaj alkana kod Lamiaceae

Prvu obuhvatniju studiju površinskih alkana kod familije Lamiaceae je uradio Maffei i sar. (1994) godine. Istraživao je hemotaksonomski značaj alkana kao markera kod ove familije budući da je familija istraživana sa aspekata različitih sekundarnih metabolita, kao što su etarska ulja ili flavonoidi. Proučavao je 30 rodova ove familije, ukupno 59 vrsta. Pokazano je da se na osnovu sastava *n*-alkana mogu odvojiti podfamilije Ajugoideae, Scutellarioideae, Nepetoideae i Lamioideae, pri čemu su Nepetoideae i Lamioideae srodnije. Posebno informativno na nivou podfamilija su se pokazali izo-alkani.

Pregled taksonomskih istraživanja alkana kod usnatika (Lamiaceae)

Maffei i sar. (1994) su proučavali alkane kod većeg broja predstavnika familije Lamiaceae i to: podfamilija Ajugoideae (*Ajuga* i *Teucrium*), podfamilija Scutellarioideae (*Scutellaria*), podfamilija Lamioideae (*Physostegia*, *Phlomis*, *Eremostachys*, *Leonurus*, *Stachys*, *Ballota*). Podfamilija Nepetoideae sa nekoliko predstavnika tri tribusa: tribus Elsholtzieae (*Perilla*). Tribus Menthinae sa rodovima iz četiri podtribusa: podtribus Salviinae (*Salvia*, *Perovskia*, *Rosmarinus*), podtribus Menthinae (*Lycopus*, *Menthae*, *Hyssopus*, *Thymus*, *Origanum*, *Calamintha*, *Satureja*, *Monarda*, *Prunella*), podtribus Nepetinae (*Nepeta*, *Lophanthus*, *Agastache*, *Glechoma*), Menthae Incertae sedis (*Melissa*), podtribus Lavandulinae (*Lavandula*) i podtribus Ociminae (*Ocimum*).

Huang i sar. (2011) su proučavali rodove *Paraphlomis* (podfamilija Lamioideae), *Elsholtzia*, *Perilla*, *Mosla* (podfamilija Nepetoideae, tribus Elsholtzieae), *Salvia* (tribus Menthinae, podtribus Salviinae), *Lycopus*, *Menthae*, *Clinopodium*, *Monarda* (tribus Menthinae, podtribus Menthinae), *Plectranthus* (*Coleus*) (tribus Menthinae, podtribus Plectranthinae), *Pogostemon* i *Isodon* (*Rabdosia*) (Labiatae: Incertae sedis).

Reddy i sar. (2000) su istraživali rod *Micromeria*, dok su rod *Satureja* pored Maffei-a proučavali još i Palić i sar. (1994) i Kitić i sar. (1999).

Klasifikacija iznad nivo roda je data i prilagođena prema Harley i sar. (2004).

1.3.7. Dosadašnja istraživanja alkana kod roda *Satureja*

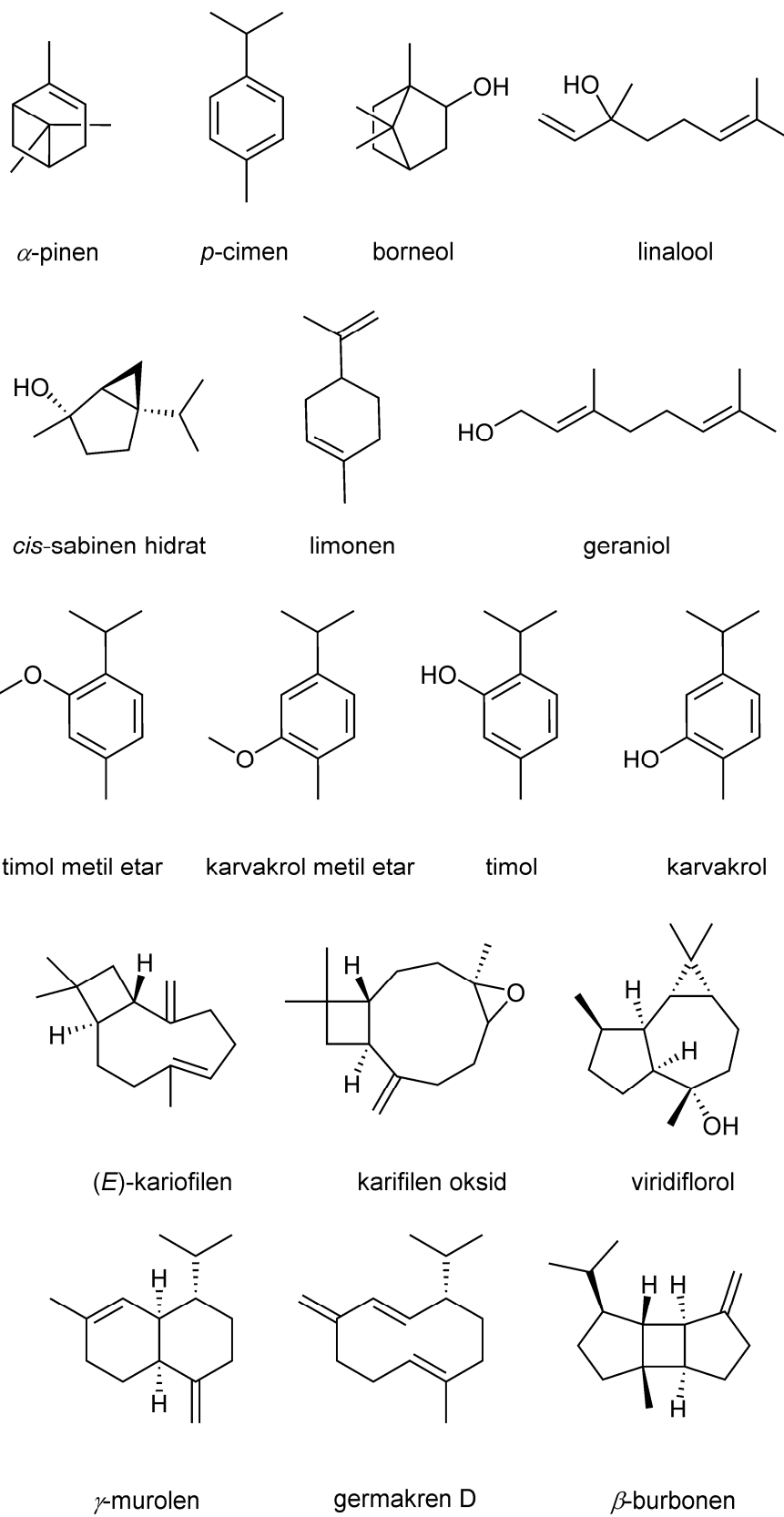
Pregled literature ukazuje da su *n*-alkani kao hemotkasonomski karakteri malo istraživani kod vrsta ovog roda. Rađeni su površinski alkani kod *S. adamovicii* i *S. fukarekii* (Kitić i sar. 1999), kod *S. hortensis* (Maffei, 1994) i alkani dobijeni pomoću Soxhlet aparature kod vrsta *S. montana* ssp. *montana* i *S. kitaibelii* (Palić i sar. 1994).

1.4. Terpeni

1.4.1. Etarska ulja

Etarska ulja su kompleksne mešavine lako isparljivih različitih jedinjenja (polarnih i nepolarnih) koje imaju jak miris i različitu obojenost, biljke ih sintetiziraju kao prirodne produkte (specijalizovane metabolite). Glavne komponente etarskih ulja su terpenoidi (mono i seskviterpeni, ređe diterpeni), alifatična i aromatična isparljiva jedinjenja (aldehidi, alkoholi, fenoli, metoksi derivati, itd.), isparljive supstance koje sadrže azot, sumporna jedinjenja (Jančić i sar. 1995; Bakkali i sar. 2008; Kumari i sar. 2014; Tongnuanchan i Benjakul, 2014; Rajčević, 2015). Nalaze se na različitim delovima biljaka, listovima, stabljikama, cvetovima, pupoljcima, plodovima i semenima. Zbog svog sastava mogu da oštete samu biljku, stoga se skladište u specifičnim strukturama – sekretornim ćelijama, šuplinama, kanalima i žlezdanim trihomama. Zahvaljujući upravo svom sastavu poseduju niz bioloških uloga. Mogu imati antimikrobnu ulogu, služiti kao repelenti za herbivore ili atraktanti za oprašivače i raznosaoce semena (disperzija semena), mogu privlačiti prirodne neprijatelje herbivora (Langenheim, 1994; Bakkali i sar. 2008; Kessler i Heil, 2011). Takođe, zbog ovih bioloških uloga ljudi ih već stotinama pa i hiljadama godina koriste kao antimikrobna, antioksidativna, analgetička, sedativna, antiinflamatorna, splazmolitička i anestetička sredstva (Bakkali i sar. 2008; Tepe i Cilkiz, 2015). Poznato je oko 3.000 etarskih ulja, a oko 300 se komercijalno koristi u različitim industrijama (farmaceutskoj, agronomskoj, industriji hrane, dezinfekcije, kozmetičkoj i industriji parfema) (Bakkali i sar. 2008).

Terpeni kao glavna klasa jedinjenja prisutnih u etarskim uljima su produkti kondenzovanja osnovne izoprenske jedinice (C_5). Do sada je opisano preko 30.000 različitih struktura (Slika 1.4.1) (Crocchi 2010, Rajčević, 2015). U zavisnosti od broja povezanih izoprenskih jedinica, dele se na monoterpene (C_{10}), seskviterpene (C_{15}), diterpene (C_{20}), triterpene (C_{30}) i tetraterpene (C_{40}) (Bakkali i sar. 2008; Tongnuanchan i Benjakul, 2014).

Slika 1.4.1. Strukturne formule nekih tepena prisutnih kod *Satureja*

1.4.2. Biološka uloga etarskih ulja

Terpeni imaju veoma važnu biološku ulogu kako za samu biljku tako i za ekosistem. Postoje primarni i specijalizovani terpeni. Primarni učestvuju u transportu elektrona (ubikvinon i plastokinon), fotosintezi (karotenoidi), služe kao hormoni (giberalini, citokinini, auksini, brasinolidi i strigolaktini) (Pichersky i Raguso, 2016). Specijalizovani služe kao odbrana od herbivora i patogena, bilo direktno kao toksini ili repelenti ili indirektno privlačenjem predatora ili parazita određenih herbivora (Kessler i Heil, 2011). Takođe, imaju i ulogu u privlačenju oprašivača, imaju aleopatski efekat i učestvuju u interakciji sa reaktivnim gasovima troposfere (Langenheim, 1994).

Biotička interakcija

Etarska ulja imaju nekoliko biotičkih interakcija: odbrana od herbivora i patogena, privlačenje predatora i parazita herbivora, privlačenje oprašivača i raznosiča semena, signalnu i aleopatsku interakciju.

Odbrana od herbivora može da bude direktna i indirektna. Direktna odbrana podrazumeva da komponente koje čine etarsko ulje su ili toksične ili repelentne za određene herbivore (Langenheim, 1994; Cheng i sar. 2007; Bakkali i sar. 2008; Kessler i Heil, 2011; Rehman i sar. 2016). Linalol, timol, kariofilen oksid su samo neki od monoterpena i seskviterpena koji su pokazali i insekticidni i fungicidni efekat (Boulogne i sar. 2012). Međutim, jedinjenja koja su toksična mogu da posluže određenim specijalizovanim insektima kao odbrana od drugih insekata, kao što je slučaj sa Euglossinae (pčele orhideja) koje mogu da podnesu 1,8-cineol (koji ima antimikrobno i insekticidno dejstvo). Mužjak ovih insekata sakuplja ovaj monoterpen u tečnom obliku iz cvetova nekoliko vrsta orhideja, za koje su oni jedini oprašivači, radi udvaranja ženki (Zimmermann i sar. 2006). Ženke ove vrste sakupljaju triterpenske smole (mešavina β -amirina, β -amirona, damadienola i damadienona) iz cvetova nekih vrsta roda *Dalechampia* radi izgradnje gnezda, pri čemu vrše i oprašivanje (Armbruster, 1993). Ovaj i drugi slični primeri mutualizma (Bowers i Puttick, 1986; Petschenka i sar. 2013; Bramer i sar. 2015) pokazuju da jedinjenja koja su prvobitno služila za odbranu od širokog spektra neprijatelja su postala atraktanti ili nagrade organizmima koji su razvili rezistenciju na iste i vremenom su izabrani kao signali ili resursi koji povećavaju stopu preživljavanja ili reprodukcije oba organizma (Pichersky i Raguso, 2016).

Indirektna odbrana podrazumeva emitovanje specifične mešavine isparljivih komponenti posle napada herbivora koja privlači njihove predatore (Langenheim, 1994, Tholl, 2006, Cheng i sar. 2007). Poslednjih godina velika pažnja se posvećuje odbrani ekonomski značajnih vrsta kao što su kukuruz, pamuk, topola, lima pasulj (Rodriguez-Saona i sar. 2003, Arimura i sar. 2004, Mithöfer i sar. 2005, Schnee i sar. 2006). Istraživanja kukuruza su otkrila da korenovi biljaka koje su napali herbivori emituju kariofilen koji je jak atraktant entomofagnih nematoda (Rasman i sar. 2005). Izdanci *Lotus japonicus* koje su napale grinje (*Tetranychus urticae*) ispuštaju mešavinu isparljivih komponenti koje privlače predatore ovih grinja (*Phytoseiulus persimilis*) (Ozawa i sar. 2000). Takođe, mešavine isparljivih komponenti čiju emisiju su izazvali herbivori ili drugi elicitori utiču na ekspresiju gena i rezultuju pripremom odbrane kod drugih biljaka u okruženju bilo da pripadaju istoj vrsti ili ne (Kost i Heil, 2006).

Postoji velika varijabilnost u sastavu etarskih ulja različitih organa na istoj biljci (jedan profil se nalazi u listovima drugi u kruničnim, treći u čašičnim listićima, četvrti u prašnicima i polenu) (Baker i sar. 1989; Dobson i sar. 1969; 1990). Pojedini terpeni imaju multifunkcionalnu ulogu, kao što je slučaj sa linalolom (koji je repelent za fakultativne oprašivače a atraktant za obligatne) (Junker i Blüthgen, 2010) i β -mircenom (koji u zavisnosti od koncentracije može biti repelent ili atraktant obligatnom oprašivaču (Terry i sar. 2007).

Alelopatska inhibicija klijanja semena je posebno vidljiva u Mediteranu i sušnim regionima, gde je i najveća zastupljenost aromatičnih biljaka. Etarska ulja se sakupljaju u biljnim ostacima, zemljištu i semenima u toku sušne sezone, međutim, u toku kišne sezone ona se oslobađaju i inhibiraju klijanje semena, što posebno utiče na jednogodišnje biljke, pa se vide zone bez biljaka (Friedman, 1988). U porodici Lamiaceae komponente etarskih ulja koje imaju alelopatski efekat su α - i β -pinen, kamfen, limonen, α -felandren, p -cimen, 1,8-cineol, borneol, pulegon i kamfor (Fisher, 1988). Monoterpenski ugljovodonici su malo rastvorljivi u vodi, dok monoterpenski etri, ketoni i alkoholi pokazuju rastvorljivost u vodi što može da objasni njihovo prisustvo u zemljištu. Alkoholi otvorenog lanca (nerol, geraniol i linalol) kao i monociklični alkoholi (terpinen-4-ol, α -terpineol i borneol) su pokazali značajnije delovanje od ugljovodonika (mircen, limonen, α -terpinen, felandren, p -cimen i α -i β -pinen). Alelopatska inhibicija je obično rezultat kombinovanog delovanja grupe jedinjenja koje utiču na biohemijske interakcije između biljaka, uključujući i one u

kojima posreduju mikroorganizmi zemljišta (Angelini i sar. 2003).

Abiotička inerakcija

Etarska ulja imaju nekoliko različitih abiotičkih interakcija. Poboljšavaju toleranciju na visoku solarnu radijaciju i visoke temperature lista (Langenheim, 1994).

Biljke bogate etarskim uljima žive uglavnom u sredinama koje su osunčane i uglavnom izložene suši, posebno tokom letnjih meseci. U takvim uslovima biljke primaju više svetlosne energije nego što je potrebno za fiksaciju ugljenika, što može da dovede do oštećenja sistema za fotosintezu. Smatra se da proizvodnja i akumulacija etarskih ulja doprinosi zaštiti ovog sistema (Sombbrero, 1992; Joffre i sar. 1999, Arslan i Schreiner, 2012). Posebno što je u toku leta mnogo veći prinos etarskih ulja nego u toku proleća ili jeseni (Vokou i Margaris, 1986; Basker i Putievsky, 1978).

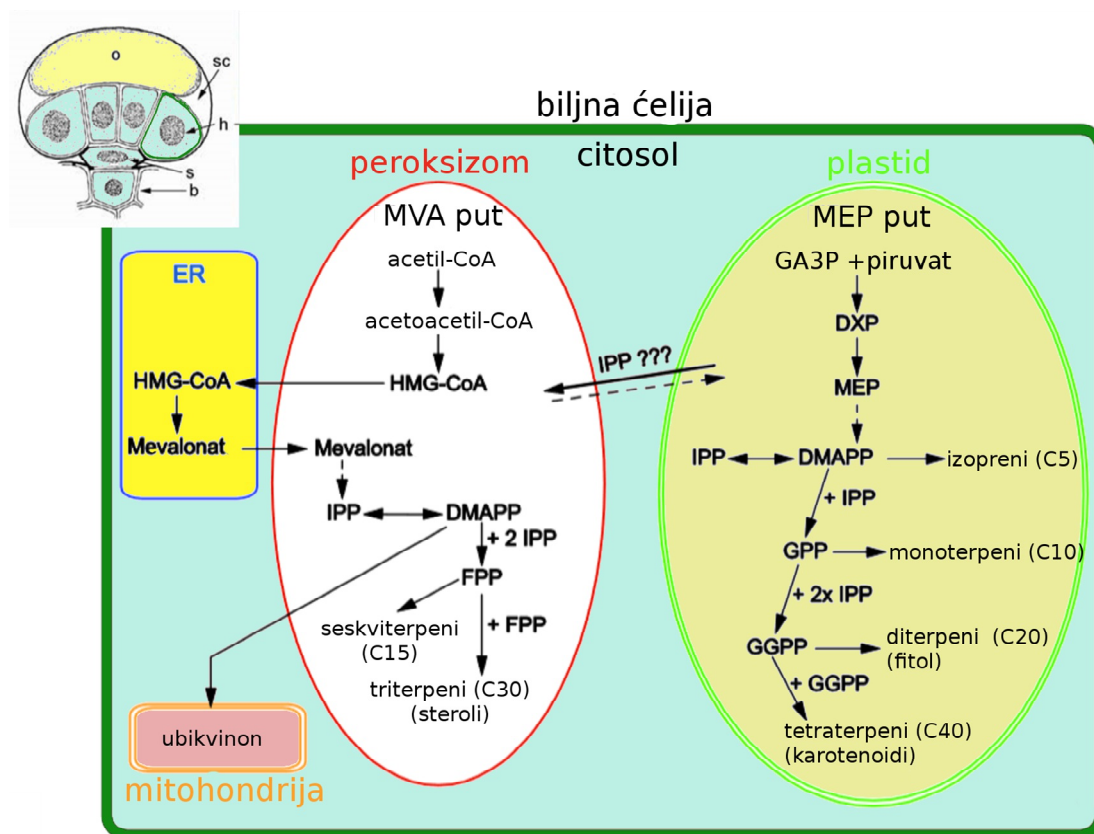
Visoka insolacija povećava i temperaturu lisne površine. Žlezdane dlačice (trihome) koje sadrže etarska ulja, povećavaju toleranciju na visoke temperature i smanjuju gubitak vode transpiracijom, zbog zadržavanja vazuha zasićenog parama etarskog ulja koji služi kao izolator od visokih temperatura (Audus i Cheetham, 1940). Takođe, mogu da imaju i rashlađujući efekat i da iniciraju zatvaranje stoma, a emisija izoprena i monoterpena obezbeđuje toplotnu zaštitu listovima izloženim visokim temperaturama (Sharkey i Singsaas, 1995).

Terpeni nastali isparavanjem etarskih ulja se nalaze u vazduhu, najčešće su prisutni α -i β -pinen i limonen. Pronađeno je više monoterpena u vazduhu kako kod gajenih tako i kod divljih biljaka koje žive na velikom prostranstvu Centralne doline u Kaliforniji (Arey i sar. 1991). Pored monoterpena pronadjeni su i seskvitrpeni uključujući i kariofilene koje je emitovala jedna trećina analiziranih vrsta. Proučavani su zbog svoje uloge u transformaciji i transportu atmosferskog ozona i aerosola, budući da reaguju brzo s ozonom kao i sa hidroksi i nitrit radikalima (Grosjean i sar. 1992). Monoterpeni se nadmeću s metanom za oksidovanje pomoću OH^\bullet radikala, povećanjem količine monoterpena, smanjuje se količina OH^\bullet radikala dostupnog za oksidovanje metana, što dovodi do povećanja životnog veka metana u atmosferi (Langenheim, 1994). Tropske kišne šume su posebno značajan izvor biogenerisanih ugljovodonika kao što su terpeni (uključujući i izoprene) koji mogu da utiču na koncentracije ozona (Zimmerman i sar. 1988). Proizvodnja ili korišćenje ozona tokom oksidovanja ugljovodonika zavisi od koncentracije azot oksida (NO). Ako su koncentracije

velike (veće od 10 ppm zapremine) dolazi do produkcije ozona, što je najčešći slučaj u Amazonu (Crutzen i Andreae, 1990). Budući da ozon ima različita dejstva na niz vrsta, promena u atmosferskoj hemiji troposfere (kojoj doprinose i terpeni) može da dovede do promene tropskih zajednica i populacija i da predstavlja dodatni faktor stresa ugroženom tropskom biomu i u udaljenim regionima (Herms i Mattson, 1992).

1.4.3. Biosinteza terpena

Terpeni, kao i neki drugi specijalizovani metaboliti, se sintetišu u žlezdanim trihomama i čine glavnu klasu jedinjenja sa velikom raznolikošću bilo samog osnovnog skeleta ili zbog nastanka različitih kasnijih modifikacija (Lange i Turner, 2013). Svi terpeni nastaju iz zajedničkog C₅ prekursora izoprenil pirofosfata (IPP) i njegovog izomera dimetilalil pirofosfata (DMAPP), koji nastaju kroz dva nezavisna puta u različitim ćelijskim kompartmentima. IPP može da nastane iz citosolnog mevalonatnog puta (MVA) kondenzacijom dva acetyl-CoA ili plastidnog metil-eritriol fosfatnog puta (MEP) kondenzacijom gliceraldehid 3-fosfata i piruvata (Slika 1.4.3.1) (Newman i Chappell, 1999; Lichtenthaler, 1999; Gutensohn i sar. 2013; Rasulov i sar. 2015). Međutim, može doći i do razmene i kada su formirani veći izoprenoidi (GPP), postoji više skorašnjih radova gde je pokazano da monoterpeni mogu da sintetišu multiprodukt seskviterpen sintaze u citosolu (Gutensohn i sar. 2013).



Slika 1.4.3.1. Biosinteza terpena se odvija u ćelijama žlezdanih trihoma (nacrtano prema Crocoll, 2011); MVA: mevalonična kiselina; MEP: metil-eritritol-fosfat; IPP: izopentil pirofosfat; DMAPP: dimetilalil pirofosfat; GA3P: gliceraldehid-3-fosfat; GPP: geranil pirofosfat; FPP: farnezil pirofosfat; GGPP: geranil geranilpirofosfat; o: etarsko ulje; sc: šupljina iznad sekretornih ćelija u kojoj se magacionira ulje; ćelije peltatne trihoma: h - glave, s - vrata i b - baze

Sesкви- (C_{15}) i triterpeni (C_{30}) uglavnom nastaju od citosolnog IPP i DMAPP putem sinteze farnezil difosfata (FPP), dok mono- (C_{10}), di- (C_{20}) i tetraterpeni (C_{40}) nastaju od plastidnih IPP i DMAPP sintezom geranil pirofosfata (GPP) i geranilgeranil pirofosfata (GGPP). Međutim, moguća su i ukrštanja između pomenutih puteva biosinteze (MVA i MEP) (Hemmerlin i sar. 2003; Laule i sar. 2003; Dudareva i sar. 2005). Opisan je transport prenil difosfata iz hloroplasta uz hipotetičko učešće Ca^{2+} proton simportera (Bick i Lange, 2003). Flügge i Gao (2005) predlažu ulaz u hloroplast kroz uniport, bez transporta fosforilovanih jedinjenja uz uslov vezivanja za trans stranu membrane. Hemmerlin i sar. (2003) su pokazali da pod određenim uslovima može da dođe do prelaza metabolita između citosolnog i plastidnog biosintetskog puta preko plastidne ovojnice i da je transport dvosmeran. Dudareva i sar. (2005) su pokazali da je plastidni put biosinteze IPP (MEP) dao

prekursore i za plastidnu sintezu monoterpena, ali i za sintezu seskviterpena u citosolu. Međutim, do sada nijedan transporter ili gen nije izolovan (Champagne i Boutry, 2016).

Sledeći korak u biosintezi terpena je kuplovanje izoprenskih jedinica (IPP i DMAPP). Ovaj korak obavljaju enzimi preniltransferaze kratkog lanca (*short-chain prenyltransferases*) GPP sintetaza (GPS), FPP sintetaza (FPS) i GGPP sintetaza (GGPS) (Gershenzon i Kreis, 1999; Cheng i sar. 2007). GGPS i FPS igraju ključnu ulogu u sintezi terpena kako primarnih tako i specijalizovanih i karakteristični su za mnoge biljne vrste dok su GPS izolovane samo iz biljaka koje proizvode veliku količinu monoterpena (Cheng i sar. 2007).

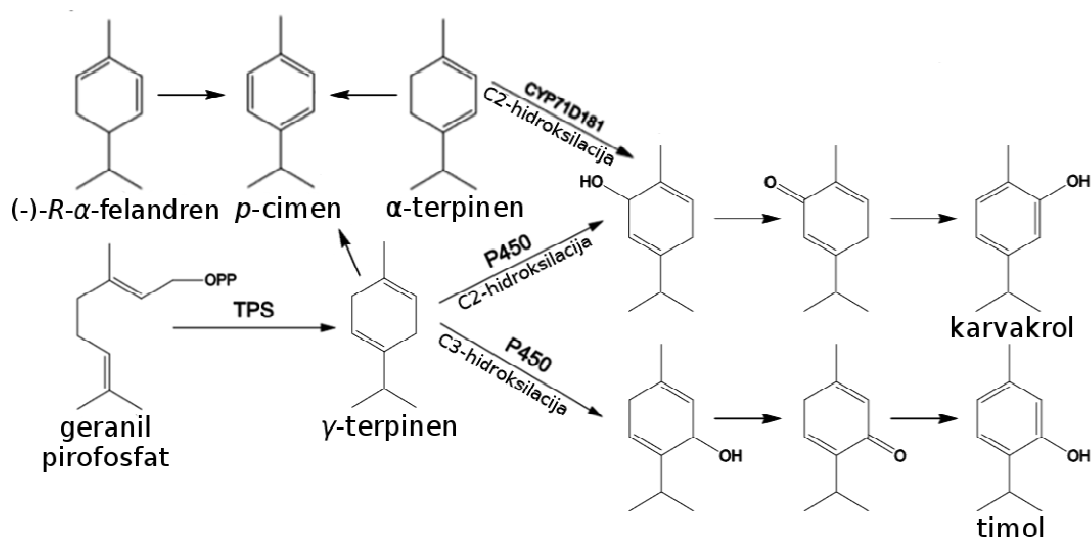
Poslednji korak sinteze terpena je konverzija prenildifosfata (GPP, GGPP i FPP) u monoterpena, diterpena i seskviterpena pomoću terpen sintaza (TPS) (Bohlmann i sar. 1998). Smatra se da su monoterpen i seskviterpen sintaze nastale od predačke diterpen sintaze primarnog metabolizma, koja je imala tri domena (α , β i γ) i trans peptid (signalni peptid i upućuje na transport proteina iz citosola u plastide) (Trapp i Croteau, 2001; Martin i Bohlmann, 2004; Hillwig i sar. 2011; Köksal i sar. 2011). Monoterpen sintaze su nastale gubitkom γ domena, dok su seskviterpen sintaze izgubile i γ domen i trans peptid (Hillwig i sar. 2011; Köksal i sar. 2011). U slučaju seskviterpen sintaza postoje različite hipoteze, jedna da je kod seskviterpen sintaza došlo do gubitka trans peptida diterpen sintaze pre ili posle gubitka γ domena. Druga navodi na nastanak seskviterpen sintaza od monoterpen sintaza koje su prvo izgubile γ domen pa signalni peptid (Pazouki i Niinemets, 2016).

Proteini koji grade terpen sintaze (TPS) imaju 550-850 amino kiselina i čini ih C-terminalni domen sa aktivnim mestom i N terminalni domen. Monoterpen sintaze su između 600-650 amino kiselina i duže su za 50-70 amino kiselina od seskviterpen sintaza, zbog postojanja N terminalnog tranzitnog lanca (Bohlmann i sar. 1998; Martin i sar. 2004). Bez obzira na visok stepen strukturne povezanosti TPS-ova, ne postoji jasna veza između filogenetske organizacije i katalitičke specijalnosti (Trapp i Croteau, 2001). Reakcioni mehanizam klase I monoterpen, seskviterpen i diterpen sintaza uključuje jonizaciju prenil difosfata pomoću dvovalnetnog jona i formiranje karbokatjona (Davis i Croteau, 2000). Nastali karbokatjon ima nekoliko različitih metaboličkih sudbina koje dovode do nastajanja strukturno različitih proizvoda. Ovo pokazuje da je veoma teško predvideti profil proizvoda TPS-a na osnovu njihove primarne sekvence. Zahvaljujući eksperimentima sa zamenom domena baziranih na poređenju aminokiselina dve filogenetski bliske seskviterpen sintaze (5-*epi*-aristolohen (TEAS) i vetispiradien (HVS)). Pokazano je da prvih 261 amino

kiselina i poslednjih 106 mogu da se menjaju između dva proteina bez uticaja na finalni proizvod, a da srednji regioni od 261 do 342 (TEAS) i od 386 do 449 (HVS) su odgovorne za specifičnost produkta. Himerni enzimi koji sadrže oba funkcionalna domena daju produkte oba roditeljska enzima u različitim količinama (Back i Chappell, 1996). Skoro sve TPS sadrže deo bogat aspartatom DDxxD koji učestvuje koordinaciji bivalentnog metalnog jona (Mn^{2+} , Mg^{2+}) za vezivanje substrata (Lesburg i sar. 1997). Međutim, kod nekih vrsta je umesto njega prisutan deo bogat aspartatom DxDD (Ait-Ali i sar. 1997). Dok neke ditrepen sintaze sadrže i jedan i drugi deo (Xu i sar. 2004).

Terpen sintaze formiraju veliku familiju sintaza koja broji preko hiljadu TPS gena i daje osnovu diverzitetu terpena. Rezultati genomskih sekvenci i ekspresovanih tagovanih sekvenci (EST) model biljaka (*Arabidopsis*, kukuruz, pirinač, paradajz, *Medicago* i *Picea*) pokazuju velike genske familije TPS-a koje su nastale duplikacijom gena, višestrukim mutacijama i mogućim funkcionalnim divergencijama (Tholl, 2006). Brza evolucija TPS gena je dovela do stvaranja species-specifičnih paralogih TPS genskih klastera. Kod *Arabidopsis*-a više od 10 seskviterpen i pretpostavljene diterpen sintaze su više međusobno povezane nego sa drugim seskvi- i diterpen sintazama drugih skrivenosemenica (Aubourg i sar. 2002; Tholl i sar. 2005). Pored ove divergentne evolucije species-specifičnih gena postoji i konvergentna evolucija TPS genske funkcije – izoprenske i druge terpenske sintaze koje formiraju neciklične proizvode putem relativno jednostavnog reakcionog mehanizma (Sharkey i sar. 2005) su nezavisno nastale kod golosemenica i kod skrivenosemenica. Velika raznolikost terpena može da potiče i od samih sintaza koje koristeći jedan supstrat daju različite produkte (Pazouki i Niinemets, 2016). U *in vitro* ogledima mono- i seskviterpen sintaze su često multiproduktni enzimi i na taj način proizvode i značajne količine manje zastupljenih komponenti (oko 10% ukupne proizvodnje) pored glavne komponente (Chen i sar. 2011). Broj različitih komponenti može da bude i prilično velik npr. δ -selinen i γ -humulen sintaza iz *Abies grandis* sintetišu redom 34 i 52 različita seskviterepna (Steele sar. 1998). Takođe, svi proizvodi terpen sintaza mogu da podležu dodatnim modifikacijama (glikozilaciji, redukciji, hidroksilaciji) (Tholl 2006).

Monoterpen *p*-cimen nastaje od γ -terpinena, *a*-terpinena, (-)-R- α -felandrena. Takođe, od γ -terpinena i *a*-terpinena nastaje karvakrol, hidroksilacijom na C2 poziciji pomoću citohrom P450 oksidaza, dok timol nastaje samo od γ -terpinena, hidroksilacijom na C3 (Slika 1.4.3.2)(Naghdi i sar. 2017).



Slika 1.4.3.2. Biosinteza *p*-cimena, timola i karvakrola (nacrtano prema Crocoll, 2011); CYP71D181, P450: enzimi; TPS: monoterpen sintaza

1.4.4. Kontrola biosinteze terpena

Regulacija biosinteze terpena je složena i generalno sadrži dve kategorije: prostornu i vremensku. Prostorna kategorija je vezana za mesto nastanka terpena (Dudareva i sar. 2005). Oni se uglavnom sintetišu u specijalnim strukturama kao što su žlezdane trihome ili kanali gde se akumuliraju u velikim količinama (Phillips i Croteau 1999; Gershenzon i sar. 2000; Miller i sar. 2005). Terpeni pokazuju i veoma visok stepen prostorne kontrole biosinteze. Kod *Antirrhinum* proizvodnja i emisija dve glavne mirisne komponente se dešava u gornjoj i donjoj usni cveta. Postoji kvalitativna i kvantitativna razlika između terpena koje sintetišu listovi i cvetovi kod bosiljka (Jiang i Niinemets, 2016).

Vremenska kategorija je vezana za period njihovog nastanka. Kod pitome nane sinteza monoterpena je regulisana stepenom razvika biljke i većina enzima pokazuje veću aktivnost u listovima starim od 12 do 20 dana, sa oštrim pikom na 15-om danu (McConkey i sar. 2000). Razlika u sastavu terpena u zavisnosti od fenološke faze je uočena i kod *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula angustifolia*, *Clinopodium pulegium*, *Satureja horvatii*, *S. montana* i *S. cuneifolia* (Milos i sar, 2001; Lakušić i sar. 2011; 2013^a; 2014; Lakušić i sar. 2013^b; Slavkovska i sar. 2013).

Obe pomenute kategorije su pod uticajem dodatnih faktora kao što su svetlost, temperatura, stepen razvoja i cirkadijalni ritam (Dudareva i sar. 2000; Dudareva i Pichersky, 2000; Dudareva i sar. 2003; Jiang i sar. 2011; Farré-Armengol i sar. 2014). Međutim, ne

postoji direktna veza između svetlosti (koja utiče na metabolizam i stepen razvoja biljke) i regulacije u žlezdanim dlakama. Pokazano je da postoji zavisnost maksimuma emisije terpena od svetlosti. Ovo ukazuje na postojanje korelacija sa periodom aktivnosti štetočina i kontrolisano je cirkadijalnim časovnikom ili svetlošću (Dudareva i sar. 2005).

Transkripcioni faktori igraju važnu ulogu u regulaciji biosintetze terpena. Kod pamuka WRKY vezujući element (W-box) je pronađen u promotorskom regionu gena A za (+)- δ -cadinen sintazu (CAD1-A) a WRKY transkripcioni faktor (GaWRKY1) uzgredno reguliše njegovu ekspresiju i na taj način učestvuje u regulacionoj mreži seskviterpenskih aldehida uključujući i giposol (Xu i sar. 2004). Kombinovani rezultati transkriptomskih i metabolomskih istraživanja pokazuju da je ekspresija gena glavni regulatorni korak u produkciji i fenilpropana i terpena kod bosiljka. Međutim, uočeni hemijski diverzitet četiri kultivara *Ocimum basilicum* je izgleda povezan sa post-transkripcionom i post-translacionom regulacijom nekih enzima. Posebno fosforilacija enzima koji pripadaju MEP/terpenskom i šikimat/fenilnom putu igra ključnu ulogu u proizvodnji i skladištenju specijalnih metabolita (Xie i sar. 2008). Takođe, kod bosiljka kvantitativne razlike monoterpena i seskviterpena u peltatnim trihomama različitih kultivara se primarno kontrolišu intraspecijskim varijacijama ekspresije nekoliko funkcionalnih TPS gena koji su odgovorni za njihovu sintezu (Iijima i sar. 2004). U peltatnim žlezdanim trihomama kod *Mentha x piperita* je pronađeno 1.316 jedinstvenih gena, pri čemu oko 25% od EST (expressed sequence tag) je vezano za biosintezu etarskih ulja, a 7% je za transportne proteine. Međutim, nisu pronađeni geni koji učestvuju u MEV putu, ali su LTP-ovi (koji učestvuju u sekreciji lipofilnih jedinjenja) zastupljeni sa 32%, što ukazuje na njihovu ulogu u translokaciji (Lange i sar. 2000). Kod *M. spicata* u žlezdanim trihomama je otkriveno 3.919 specijalno ekspresovanih jedinstvenih gena, uključujući 16 terpen sintaza, 18 citohrom P450, 5 LTP. Pored njih je prisutno i 20 transkripcionih faktora koji verovatno učestvuju u regulaciji terpen sintaza (Jin i sar. 2014).

Translokacija lipofilnih terpena kroz unutrašnje membrane i plazma membranu žlezdane trihome je neophodna ali još uvek nije dovoljno poznata. Translokacija prekursora između plastidnog MEP i citosolnog MEV puta je moguća (Henry i sar. 2015; Mendoza-Poudereux i sar. 2015). Međutim, u suprotnom smeru je ograničena u normalnim uslovima (Suzuki i sar. 2004). Pronađena je IP kinaza u kruničnim listićima lavande koja učestvuje u metabolizmu terpena kao alternativni korak u MVA putu za formiranje IPP-a. Ova kinaza kontroliše odnos IP/DMAP prema IPP/DMAAPP za direktnu regulaciju sinteze terpena i

daje novi izvor ugljenikovih skeleta (Henry i sar. 2015). Transport terpena kroz membrane je najverovatnije olakšan brojnim kontaktnim mestima membrana (*membrane contact site*, MCS) pomoću kojih su plastidi povezani sa glatkim ER kojima su ispunjene sekretorne ćelije žlezdanih trihoma (Hauser, 2014). Druga pretpostavka je da transporteri lokalizovani na plazma membrani učestvuju u usmerenom transportu ovih molekula i na taj način izbegavaju auto-toksični efekat. Transporteri koji koriste ATP kao što su ATP-Binding Cassestte (ABC) su dobro prilagođeni za ovaj zadatak (Kang i sar. 2011). Potrebna su dodatna istraživanja usmerena ka određivanju transportera koji učestvuju u transportu terpena u ćeliji i van nje, trihomama i drugim tkivima (Champagne i Boutry, 2016).

1.4.5. Dosadašnja istraživanja terpena

Prva sistemska istraživanja strukture terpena su počela u 19 veku. Sredinom 19 veka se znalo da ugljovodonici koji se nalaze u etarskim uljima imaju molekulsku formulu $C_{10}H_{16}$ a takođe, bili su poznati i činioći etarskih ulja koji imaju molekulsku formulu $C_{10}H_{16}O$ i $C_{10}H_{18}O$ koji su se nazivali kamfor (Başer i Buchbauer, 2015). Početkom 20. veka, 1920-ih je postalo jasno da su gradivne komponente terpena izoprenske jedinice sačinjene od pet ugljenikovih atoma i formulisano je izoprensko pravilo (Pichersky i Raguso, 2016). Razvoj analitičkih metoda u poslednjih pedeset godina je doveo do eksponencijalnog rasta znanja o jedinjenjima koja se nalaze u etarskim uljima (Başer i Buchbauer, 2015).

Pored istraživanja strukture terpena, veoma veliki broj istraživanja se bavi biološkom aktivnošću, kako kompletnih etarskih ulja tako i pojedinačnih komponenti. Etarska ulja su pokazala različite biološke uloge kao što su antibakterijska, antivirusna, antioksidativna, antinociceptivna, citotoksična, antitumorna, antinflamatorna, poboljšanje penetracije lekova, repelentna, vazodilatatorna (Burt, 2004; Bakkali i sar. 2008; Lakušić i sar. 2008; Reichling i sar. 2009; Adorjan i Buchbauer, 2010; Amorati i sar. 2013; Bhalla i sar. 2013; Milenkovic i sar. 2015; 2018; Başer i Buchbauer, 2016), insekticidna i antifungalna (Boulogne i sar. 2012; Mohammadi i sar. 2013; Tabassum, 2014), algicidna (Barani i sar. 2015), herbicidna (Grosso i sar. 2010), alelopatska (Angelini i sar. 2003; Taban i sar. 2013).

Terpeni su proučavani su sa aspekta biosinteze i regulacije biosinteze, posebno kod ekonomski važnih vrsta kukuruz, paradajz, bosiljak, nana (Bohlmann i sar. 1998; Tholl, 2006; Cheng i sar. 2007; Champagne i Boutry, 2016; Pazouki i Niinemets, 2016; Rehman i sar. 2016; Sun i sar. 2016). Pokazalo se da mogu da budu dobri hemotaksonomski markeri

u taksonomskim istraživanjima (Grayer i sar. 1999).

1.4.6. Varijabilnost etarskih ulja i njihov značaj u taksonomskim istraživanjima

Terpeni pokazuju veliku strukturnu varijabilnost, ali na nivou vrste i nižim taksonomskim nivoima varijabilnost je najčešće kvantitativna. Istraživanja hemijskog sastava vrsta *Teucrium* koje žive u Mediteranu pokazuju vezu između hemijskog sastava i morfoloških karaktera na infraspecijskom nivou (Velasco Negueruela i Pérez Alonso, 1990). Slični rezultati su dobijeni kod varijeteta vrste *Ocimum basilicum* (Pushpangadan i Bradu, 1995).

Varijabilnost

Etarska ulja su veoma varijabilna. Profili izolovanih ulja može zavisi od metode sušenja (Dudaš i sar. 2005; Ghasemi Pirbalouti i sar. 2013) a zatim i destilacije (Sefidkon i sar. 2006). Najveći prinos etarskog ulja se dobija putem hidrodestilacije u poređenju sa destilacijom vodenom parom (Sefidkon i sar. 2007; Silva i sar. 2009; Haloci i sar. 2014). Takođe, metoda destilacije doprinosi promeni sastava etarskog ulja jer zagrevanje i hidrofilni rastvarači dovode do degradacije i transformacije isparljivih jedinjenja u izvedena jedinjenja koje biljke inače ne sintetišu (Yousif i sar. 1999; Díaz-Maroto i sar. 2004).

Različiti biljni delovi imaju različit profil etarskog ulja, u zavisnosti od funkcije organa. Na primer, listovi bosiljka imaju etarsko ulje čija je uloga repelentna dok cvetovi imaju etarsko ulje čija je uloga u privlačenju oprašivača, pa će se i njihovi profili razlikovati (Jiang i sar. 2016). Fenofaza utiče na sličan način, najveći prinos je primećen u fazi cvetanja (Milos i sar. 2001; Skočibušić i sar. 2004; Chorianopoulos i sar. 2006; Sefidkon i sar. 2007; Lakušić i sar. 2011; 2013^a; 2014; Lakušić i sar. 2013^b; Slavkovska i sar. 2013; Ghamari i sar. 2016). Geografski položaj doprinosi svojim posebnim abiotičkim i biotičkim faktorima na sastav (Bilia i sar. 1992; Vokou i sar. 1993; Boira i Blanquer, 1998; Ložienė i sar. 2005; Lakušić i sar. 2011; 2012; Tuttolomondo i sar. 2014; Naghdi Badi i sar. 2017; Aboukhalid i sar. 2017). Pokazano je da distribucija biljaka sa određenim sastavom terpena može da bude pod uticajem herbivora. Karvon tip je dominantan kod populacija *Micromeria douglasii* Benth., koje žive u svetlim hrastovim šumama, sa relativno malom vlažnošću i visokim temperaturama, dok su tip menton i izomenton dominantni u vlažnijim, tamnijim i hladnijim priobalnim šumama sekvoje. Pokazano je da je na raspored

ovih hemotipova najviše uticao puž koji voli karvon tip ali ne voli topla staništa već se hrani menton i izomenton tipom iz hladnijih i vlažnijih staništa (Rice i sar. 1978). Temperatura, takođe, doprinosi varijabilnosti sastava etarskog ulja. Kod nekih vrsta roda *Origanum* pokazano je da se količina timola povećava sa smanjenjem temperature, količina karvakrola se povećavala sa porastom temperature, dok na *cis*-sabinen hidrat nije imala uticaja (Novak i sar. 2010).

Različite metode sušenja i ekstrakcije, praćene genetikom, različitim fenološkim fazama, različitim intenzitetom dnevnog svetla, temperaturom i klimom utiču na prinos etarskog ulja i njegov sastav i kod vrsta roda *Satureja* (Rhoades i sar. 1976; Lincoln i Langenheim, 1978; Svoboda i sar. 1990; Sefidkon i sar. 2006; Dardiotia i sar. 2010).

Taksonomski značaj etarskih ulja kod Lamiaceae

Neki od prvih opisa varijabilnosti etarskih ulja kod predstavnika ove familije data su za *Thymus vulgaris* u drugoj polovini dvadesetog veka (Granger i sar. 1965). Taksonomski su značajni karakteri jer poseduju veliki strukturni diverzitet, relativno se lako izoluju i nalaze se pod genetičkom kontrolom (Rajčević, 2015). Terpeni daju uvid u probleme koje su oblikovale drugačije selektivne sile od onih koje su oblikovale morfološke karaktere. Međutim, bez poznavanja i razumevanja i drugih karaktera kao što su distribucija i ekologija grupe mogu da daju pogrešnu sliku (Waterman i Gray, 1987).

Pregled taksonomskih istraživanja etarskih ulja kod Lamiaceae

Etarska ulja su se pokazala kao veoma informativni karakteri na različitim taksonomskim nivoima. Taksonomski su značajniji kod vrsta koje su morfološki veoma varijabilne kao što su predstavnici vrsta *Teucrium* (Velasco-Negueruela i Pérez-Alonso, 1990; Pérez i sar. 2000; Figueiredo i sar. 2008), *Thymus* (Salgueiro i sar. 1995; Tzakou i Constantinidis, 2005; Hazzit i sar. 2006; Figueiredo i sar. 2008; Šoštarić, 2012; Ćavar Zeljković i Maksimović, 2015), *Calamintha* (Karousou i sar. 1996; Fraternale i sar. 1998; Cook i sar. 2007; Radulović i Blagojević, 2010), *Clinopodium* (Dunkić i sar. 2017), *Micromeria* (Slavkovska i sar. 2005; Kremer i sar. 2012; Kremer i sar. 2014), *Stachys* (Skaltsa i sar. 2001; Radulović i sar. 2007; Aghaei i sar. 2013), *Sideritis* (Ezer i sar. 1996; Kirimer i sar. 2000; Vundac i sar. 2006), *Wiedemannia* sp. (Kilic i Bagci, 2013) ali i kod vrsta koje imaju ekonomsku vrednost kao što su *Ocimum* (Grayer i sar. 1996; Maundu, 1999), *Origanum*

(Vokou i sar. 1993; Russo i sar. 1998; Hazzit i sar. 2006; De Martino i sar. 2009; Goncariuc i sar. 2015; Lukas i sar. 2015), *Salvia* (Emboden i Lewis, 1967; Máthé Jr i sar. 1992; Senatore i sar. 1997; Skoula i sar. 1999; Petrova Doneva, 2002; Viljoen i sar. 2006; Anačkov i sar. 2008; Salimpour i sar. 2011), *Mentha* (Kokkini i Vokou, 1989).

1.4.7. Dosadašnja istraživanja etarskih ulja kod vrsta roda *Satureja*

Vrste ovog roda spadaju u aromatične i lekovite biljke i dugo se koriste u narodnoj medicini, kao začini i čajevi. Postoji veliki broj radova gde su proučavane biološke aktivnosti etarskih ulja (Maede i sar. 2013), antifungalna (Kocić-Tanackov i Dimić, 2013) antioksidativna, antimikrobna citotoksična (Lakušić i sar. 2008; Mihajilov-Krstev i sar. 2010; Serrano i sar. 2011; Marin i sar. 2012; Öztürk, 2012; Miladi i sar. 2013), alelopatska (Taban i sar. 2013), herbicidna (Grosso i sar. 2010), insekticidna (Michaelakis i sar. 2007) takođe, zbog velike količine podataka postoji i nekoliko revijalnih radova gde je dat presek njihovih aktivnosti i sastava (Sharafzadeh, 2014; Hajdari, 2016; Saeidnia i sar. 2016; Tepe i Cilkiz, 2016).

Međutim, mnogo manji broj istraživanja se bavi taksonomskim značajem ovih metabolita kod vrsta ovog roda. Neke od proučavanih vrsta sa aspekta sastava i/ili varijabilnosti etarskog ulja su:

S. laxiflora (Sonboli i sar. 2004). *S. darwinii*, *S. multiflora* (Niemeyer, 2010); *S. innota*, *S. intricata* (García-Rellán i sar. 2015); *S. bachtiarica* (Moein i sar. 2012; Salehi-Arjmand i sar. 2014); *S. biflora*, *S. masukensis*, *S. pseudosimensis* (Vagionas i sar. 2007); *S. intermedia* (Sefidkon i Jamzad, 2005); *S. macrosiphonia* (Aghaei i sar. 2014; Ghorbanpour i Hadian, 2017); *S. shendica* (Sefidkon i sar. 2004; Kargar i sar. 2014); *S. atropatana* (Rustaiyan i sar. 2004; Gohari i sar. 2005); *S. mutica* (Rustaiyan i sar. 2004; Gohari i sar. 2005; Sefidkon i Jamzad, 2005); *S. khusistanica* (Farsam i sar. 2004); *S. hortensis* (Azaz i sar. 2005; Omidbaigi i sar. 2007; Mohammadhosseini i Beiranvand, 2013; Tajali i sar. 2013; Kargar i sar. 2014); *S. macrantha* (Azaz i sar. 2005; Sefidkon i Jamzad, 2005; Gohari i sar. 2006); *S. aintabensis* (Azaz i sar. 2005); *S. spicigera* (Gohari i sar. 2006); *S. thymbra* (Capone i sar. 1988; Chorianopoulos i sar. 2004; Azaz i sar. 2005; Skoula i Grayer, 2005; Karousou i sar. 2005; Marković i sar. 2011). *S. pilosa* ssp. *origanita* (Dardioti i sar. 2010; 2012), *S. pilosa* ssp. *pilosa* (Konakchiev i Tsankova, 2002); *S. horvatii* ssp. *macrophylla* (Dardioti i sar. 2010; 2012), *S. spinosa* (Chorianopoulos i sar. 2004; Skoula i Grayer, 2005); *S. parnassica* ssp. *parnassica*

(Chorianopoulos i sar. 2004), *S. boissieri* (Kurkcuoglu i sar. 2001).

Posebno su značajna istraživanja vrsta i infraspecijskih taksona koje žive na prostorima Srbije, Crne Gore, Bosne i Hercegovine, Hrvatske, Makedonije, Albanije, Italije to su: *S. visianii* (Dunki i Bezić, 2008; Bezić i sar. 2009; Vidic i sar. 2009), *S. fukarekii*, *S. adamovicii* (Palić i sar. 1998), *S. borvatii* (Lakušić i sar. 2008; Lakušić i sar. 2011), *S. cuneifolia* (Milos i sar. 2001; Skočibušić i sar. 2004; Skočibušić i Bezić, 2004; Azaz i sar. 2005; Bezić i sar. 2005; 2009; Jerić, 2006; Negro i sar. 2006; Dunki i Bezić, 2008; Tommasi i sar. 2008; Šavikin i sar. 2010; García-Rellán i sar. 2015), *S. montana* (Piccaglia i sar. 1991; Stanic i sar. 1991; Panizzi i sar. 1993; Milos i sar. 2001; Slavkovska i sar. 2001; Chizzola, 2003; Skočibušić i Bezić, 2004; Bezbradica i sar. 2005; Bezić i sar. 2005; 2009; Jerić, 2006; Omidbaigi i sar. 2007; Ćavar i sar. 2008; Dunki i Bezić, 2008; Vidic i sar. 2009; Ibraliu i sar. 2011^a; 2011^b; 2013; Dunki i sar. 2012; García-Rellán i sar. 2015; Hajdari i sar. 2016), *S. montana* ssp. *montana* (Kustrak i sar. 1996; Slavkovska i sar. 1997), *S. montana* ssp. *variegata* (Kustrak i sar. 1996), *S. montana* ssp. *pisidica* (Slavkovska i sar. 1997; Kundaković i sar. 2014), *S. kitaibelii* (Sevarda i sar. 1988; Slavkovska i sar. 2001; Konakchiev i Tsankova, 2002; Kundaković i sar. 2011; Đorđević i sar. 2014), *S. kitaibelii* f. *aristata* (Chalchat i sar. 1999), *S. subspicata* (Stanic i sar. 1991; Jerić, 2006; Redzic i sar. 2006; Skočibušić i sar. 2006; Dunki i Bezić, 2008; Ćavar i sar. 2008; Bezić i sar. 2009; Dunki i sar. 2012; Bektašević i sar. 2017), *S. subspicata* ssp. *liburnica* (Dunki i sar. 2007) i *S. subspicata* ssp. *subspicata* (Gašić i Palić, 1983; Dunki i sar. 2007).

Hemotaksonomska istraživanja vrsta roda *Satureja* sa prostora Slovenije, Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Srbije, Crne Gore i Makedonije, na osnovu dostupne literature, su do sada urađena ili sa manjim brojem populacija ili sa manjim brojem jedinki po populaciji. Najistraživanija je vrsta *S. montana*, zatim *S. subspicata* i najmanje *S. kitaibelii*, takođe, veoma malo su proučavane podvrste kako *S. montana* tako i *S. subspicata*.

2 Ciljevi doktorske disertacije

Balkansko poluostrvo je floristički najraznovrsnije područje Evropskog kontinenta. Osnovni uzroci ove raznovrsnosti potiču i od biotičkih i abiotičkih faktora i istorijskih faktora: kao što je pomeranje granica kopno-more, uticaja ledenih doba i položaja ledene kalote, zbog čega postoje brojni refugijumi iz kojih su kasnije krenule radijacije i specijacije biljaka (Čarni, 2017). Filogenetski i taksonomski odnosi velikog broja taksona vaskularnih biljaka, posebno cvetnica, još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni. Florističkom diverzitetu Balkanskog poluostrva u velikoj meri doprinose predstavnici porodice Lamiaceae, koja je na ovom prostoru zastupljena sa većim brojem rodova, od kojih je rod *Satureja* jedan od posebno interesantnih i kompleksnih.

Na prostoru Balkana raste 9 vrsta i nekoliko infraspecijskih taksona roda *Satureja*: *S. montana* (podvrste: *S. montana* ssp. *montana*, *S. montana* ssp. *variegata*, *S. montana* ssp. *pisidica*), *S. kitaibelii*, *S. subspicata* (podvrste: *S. subspicata* ssp. *liburnica*, *S. subspicata* ssp. *subspicata*), *S. cuneifolia* Ten., *S. adamovicii* Šilić, *S. fukarekii* Šilić, *S. horvatii* Šilić, *S. visianii* Šilić, *S. thymbra* L.). Svi oni naseljavaju slična staništa: sušne, otvorene kamenjare, gde se retko može naći više od dve vrste na istom staništu. *S. kitaibelii*, *S. adamovicii*, *S. fukarekii*, se nalaze dublje u kopnu dok su *S. montana*, *S. subspicata* i *S. horvatii* pretežno mediteranske vrste. Postoji nekoliko zona gde se *S. montana* i *S. subspicata* mogu naći u simpatriji.

Najveći areal od svih vrsta ovog roda ima *S. montana*. Njen areal se prostire duž celog Mediterana (Pirinejsko poluostrvo, jug Francuske, Apeninsko poluostrvo, Balkan, Rumunija, kao i priobalne zone Krima, Turske, Sirije i Irana) od nivoa mora pa do 1.200 m.n.v. *S. montana* je morfološki veoma varijabilna, čak i na intrapopulacionom nivou, pa je njen taksonomski status veoma kompleksan.

Šilić (1979) je proučavao ovu vrstu na području bivše Jugoslavije gde je na osnovu populacionih istraživanja i morfolološko-horološke metode podelio ovaj takson na nekoliko podvrsta i nižih taksona.

S. montana L. s.s. je podelio na tri podvrste:

1. ssp. *variegata* (endemit severoistočnog dela Italije, zapadnog dela Slovenije i severo-zapadnog dela Hrvatske),
2. ssp. *montana* (primorski i kontinentalni Dinaridi)

3. ssp. *pisidica* (jugoistočni deo Balkanskog poluostrva i Mala Azija).

Takođe, izdvojio je *S. subspicata* (Italija, Slovenija, Hrvatska, Bosna i Hercegovina, Srbija, Crna Gora i severna Albanija), sa dve podvrste:

1. ssp. *liburnica* (Slovenija, Hrvatska, Bosna i Hercegovina)
2. ssp. *subspicata* (Italija, Dinaridi i primorski delovi: Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Crne Gore i jugozapadna Srbija, severna Albanija).

S. kitaibelli (severoistočni delovi Balkana: istočna Srbija, južna Rumunija i zapadna Bugarska) je odvojio kao zasebnu vrstu..

U flori Evrope (1972) su vrste *S. subspicata* i *S. kitaibelli* tretirane kao podvrste *S. montana*. Prema informacijama dostupnim putem portala Euro+Med plant base (sajt o Evro-Mediterranskom diverzitetu biljaka) u koji je integrisana i Flora Evrope prihvaćene su Šilićeve vrste na prostoru Jugoslavije i Balkana, uz dodatak još jedne podvrste *S. montana* ssp. *macedonica* (endemit Grčke, Olimp).

Pregledom literature je uočeno da, uprkos detaljnim morfološkim analizama, ne postoji dovoljno podataka o intra- i interpopulacionoj varijabilnosti ovih taksona na području Balkana sa fitohemijskog aspekta, posebno kada su u pitanju flavonoidi, alkani i etarska ulja. Ciljevi ove disertacije su:

1. **Analiza varijabilnosti morfoloških karaktera** *Satureja montana* (podvrste: *S. montana* ssp. *montana*, *S. montana* ssp. *variegata* i *S. montana* ssp. *pisidica*), *S. kitaibelli* i *S. subspicata* (podvrste: *S. subspicata* ssp. *liburnica*, *S. subspicata* ssp. *subspicata*) sa Balkanskog poluostrva.
2. **Utvrđivanje sastava, sadržaja i varijabilnosti flavonoida** na listovima vrsta *Satureja montana*, podvrste: *S. montana* ssp. *montana*, *S. montana* ssp. *variegata* i *S. montana* ssp. *pisidica*, *S. kitaibelli* i *S. subspicata* (podvrste: *S. subspicata* ssp. *liburnica*, *S. subspicata* ssp. *subspicata*) (Lamiaceae) sa Balkanskog poluostrva.
3. **Utvrđivanje sastava, sadržaja i varijabilnosti alkana** u kutikularnim voskovima listova prirodnih populacija vrsta i podvrsta *Satureja montana*, *S. kitaibelli* i *S. subspicata*.

4. **Utvrđivanje sastava, sadržaja i varijabilnosti terpena** i drugih isparljivih aromatičnih i alifatičnih ugljovodnika u nadzemnim organima iz odabranih prirodnih populacija vrsta i podvrsta *Satureja montana*, *S. kitaibelii* i *S. subspicata*.
5. **Utvrđivanje uticaja bioklimatskih parametara staništa na sastav flavonoida, alkana i terpena** u populacijama istraživanih vrsta.
6. **Utvrđivanje hemotaksonomskog značaja flavonoida, alkana i terpena** kod istraživanih taksona
7. **Uporedna analiza fitohemijskih i morfoloških karaktera u diferencijaciji** analiziranih vrsta i infraspecijskih taksona.

3 Materijal i metode

3.1. Prikupljanje bilnog materijala

Biljni materijal je prikupljen sa područja Balkanskog poluostrva (Slovenija, Hrvatska, Bosna i Hercegovina, Crna Gora, Srbija, Makedonija) u periodu od 2012. do 2016., vodeći računa o diverzitetu staništa. Lokaliteti i njihove karakteristike dati su u Tabeli 3.1. Mapa distribucije sakupljenih populacija *S. montana* (ssp. *montana*, ssp. *variegata* i ssp. *pisidica*), *S. kitaibeli*, *S. subspicata* (ssp. *liburnica* i ssp. *subspicata*) je data na Slikama 3.1. i 3.2. Taksoni žive simpatrijski na nekoliko lokaliteta duž Dinarida i Jadranske obale. Kako bi procenili uticaj genetičkih faktora na proučavane fitohemijske karaktere prilikom prikupljanja materijala vođeno je računa da se obuhvate i oni lokaliteti gde ove dve vrste žive u simpatriji i na taj način se eliminiše eventualni uticaj ekoloških faktora kod taksona *S. montana* i *S. subspicata*.

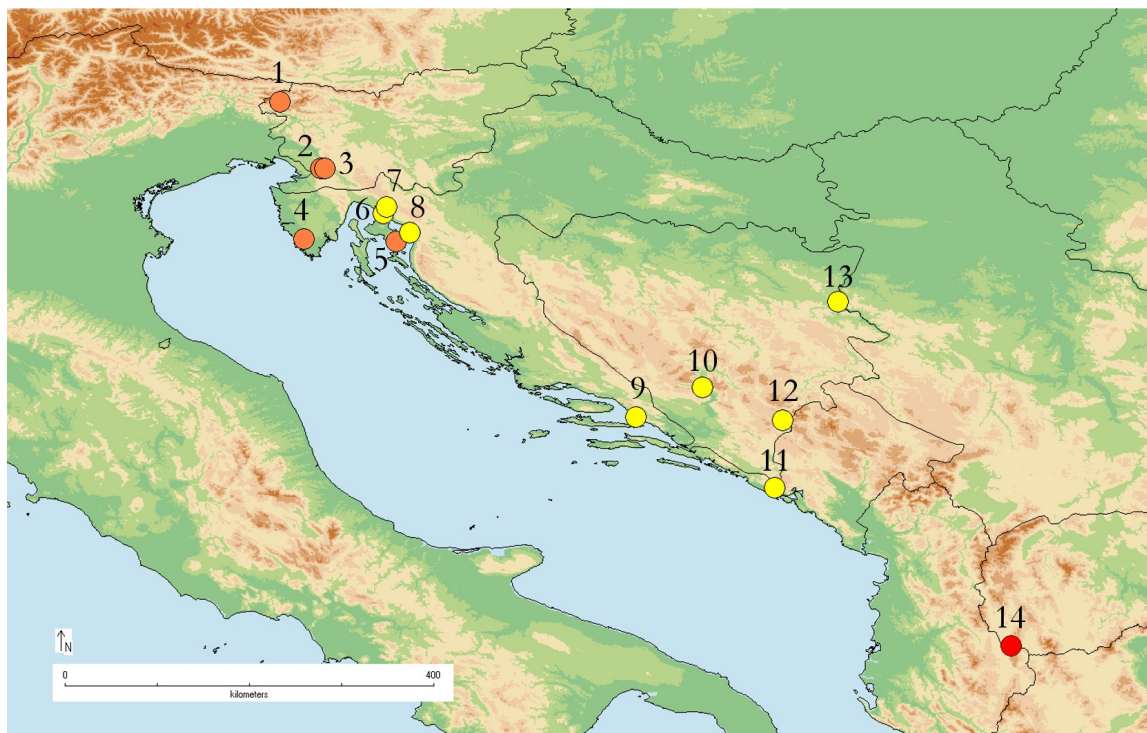
Nadzemni izdanci pojedinačnih jedinki su sakupljeni u periodu cvetanja na terenu i pakovani u papirne kese. Sušene su u hladu na sobnoj temperaturi i dalje su čuvane na sobnoj temperaturi do izolacije i hemijske analize. Prilikom sakupljanja vođeno je računa da jedinke budu udaljene nekoliko metara jedna od druge, kako bi se izbegli klonovi.

Vaučeri sakupljenog materijala su deponovani u Herbarijumu Instituta za botaniku i Botaničke bašte "Jevremovac.

Tabela 3.1. Lokaliteti i njihove karakteristike kod proučavanih vrsta

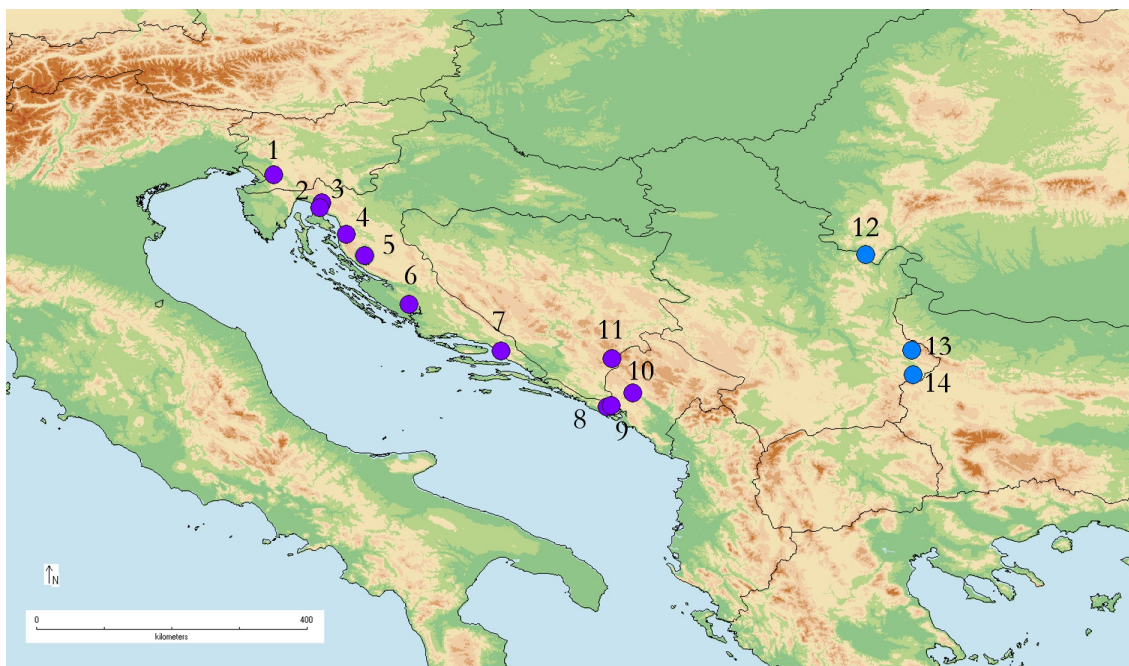
Takson	Lokalitet	GPS		Alt (m)	Nagib	Ekspozicija	Podloga	Analiza
		N (°)	E (°)					
<i>S. montana</i> ssp.	Jadranovo*	45.237	14.620	147	12°	SW	krečnjak	a,b,c,d
<i>montana</i>	Zlobin*	45.301	14.653	861	20°	SW	krečnjak	a,b,c,d
	Sibinj	45.040	14.882	28	20°	SW	krečnjak	a,b,d
	Makarska	43.211	17.117	149	52°	SW	krečnjak	a,b,d
	Zvornik	44.363	19.112	185	20°	S	krečnjak	a,b,c
	Neretva	43.501	17.773	142	55°	SW	krečnjak	a,b,c
	Gacko*	43.193	18.570	1086	20°	E	krečnjak	a,b,c,d
	Mokrine	42.517	18.486	599	<10°	E	krečnjak	a,b,c,d
<i>S. montana</i>	Bovec	46.337	13.599	435	50°	SW	krečnjak	a,b,c,d
<i>ssp. variegata</i>	Crni vrh	45.674	14.044	578	30°	SW	krečnjak	a,b,c,d
	Divača*	45.677	14.003	415	<10°	W	krečnjak	a,b,c,d
	Vodnjan	44.983	13.835	3	<10°	SW	krečnjak	a,b,c
	Krk	44.958	14.745	10	30°	NE	krečnjak	a,b,c,d
<i>S. montana</i> ssp.	Galičica	40.954	20.822	1600	<10°	S	krečnjak	a,b,c,d
<i>pisidica</i>								
<i>S. kitaibelii</i>	Đerdap	44.611	21.999	120	84°	E	krečnjak	a,b,c,d
	Poganovo	42.981	22.640	514	<10°	S	krečnjak	a,b,c,d
	Temešica	43.304	22.625	584	48°	S	krečnjak	a,b,c,d
<i>S. subspicata</i> ssp.	Divača*	45.677	14.003	415	<10°	W	krečnjak	a,b,c,d
<i>liburnica</i>	Jadranovo*	45.237	14.620	147	12°	SW	krečnjak	a,b,c,d
	Zlobin*	45.301	14.653	861	20°	SW	krečnjak	a,b,c,d
	Velebit	44.878	14.978	829	11°	NE	krečnjak	a,b,c,d
	Šušanj	44.525	15.114	610	20°	W	krečnjak	c
	Đevrske	43.941	15.832	213	42°	W	krečnjak	a,b,c,d
<i>S. subspicata</i> ssp.	Biokovo	43.299	17.072	1276	<10°	W	krečnjak	a,c,d
<i>subspicata</i>	Orjen	42.544	18.501	946	48°	S	krečnjak	a,b,c,d
	Crkvice	42.560	18.564	1486	13°	E	krečnjak	a,c,d
	Nikšić	42.737	18.852	719	<10°	S	krečnjak	a,b,c
	Gacko*	43.193	18.570	1086	22°	E	krečnjak	a,b,c,d

a- morfometrija; **b-** flavonoidi; **c-** alkani; **d-** etarska ulja; *-simpatrijske populacije



Slika 3.1. Prostorna distribucija odabranih populacija ● *S. montana* ssp. *variegata*; ● *S. montana* ssp. *montana*; ● *S. montana* ssp. *pisidica*. Karakteristike lokaliteta date su u Tabeli 3.1; Analizirani: **a** - morfometrija; **b** - flavonoidi; **c** - alkani; **d** - etarska ulja

- | | |
|---|--|
| ● <i>S. montana</i> ssp. <i>variegata</i> | 8. Sibinj (a,b,d) |
| 1. Bovec (a,b,c,d) | 9. Makarska (a,b,d) |
| 2. Divača (a,b,c,d)* | 10. Neretva(a,b,c) |
| 3. Crni vrh (a,b,c,d) | 11. Mokrine (a,b,c,d) |
| 4. Vodnjan (a,b,c) | 12. Gacko (a,b,c,d)* |
| 5. Krk (a,b,c,d) | 13. Zvornik (a,b,c) |
| ● <i>S. montana</i> ssp. <i>montana</i> | ● <i>S. montana</i> ssp. <i>pisidica</i> |
| 6. Jadranovo (a,b,c,d)* | 14. Galičica (a,b,c,d) |
| 7. Zlobin (a,b,c,d)* | |



Slika 3.2. Prostorna distribucija odabranih populacija ● *S. subspicata*; ● *S. kitaibelii*. Karakteristike lokaliteta date su u Tabeli 3.1; Analizirani: **a** - morfometrija; **b** - flavonoidi; **c** - alkani; **d** - etarska ulja; * lokaliteti simpatrijskih populacija

S. subspicata ssp. *liburnica*

1. Divača (a,b,c,d)*
2. Jadranovo (a,b,c,d)*
3. Zlobin (a,b,c,d)*
4. Velebit (a,b,c,d)
5. Šušanj (c)
6. Đevrske (a,b,c,d)

S. subspicata ssp. *subspicata*

7. Biokovo (a,c,d)
8. Orjen (a,b,c,d)
9. Crkvice (a,c,d)
10. Nikšić (a,b,c)
11. Gacko (a,b,c,d)*

S. kitaibelii

12. Đerdap (a,b,c,d)
13. Poganovo (a,b,c,d)
14. Temšica (a,b,c,d)

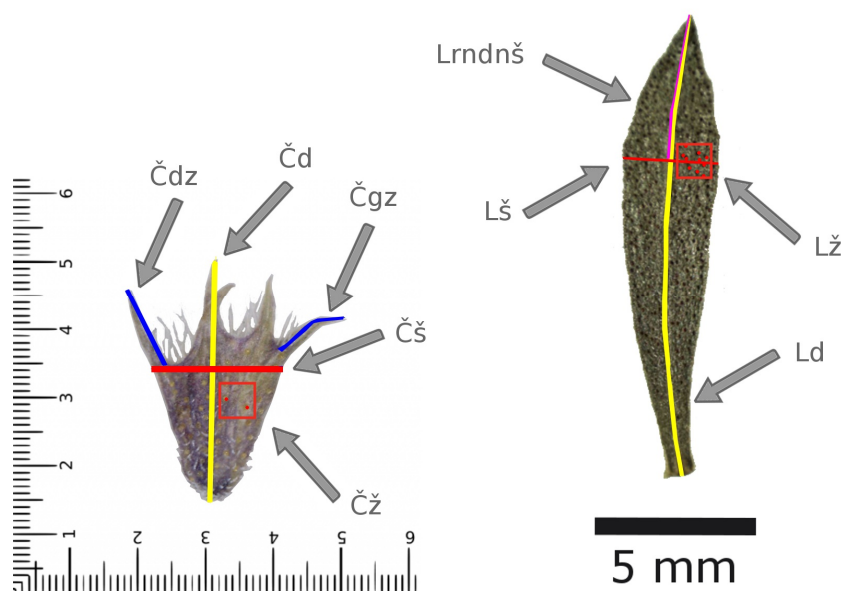
3.2. Morfometrija

Materijal za morfometrijske analize je uzet od pojedinačnih jedinki, dok je preostali deo bilnog materijala korišćen za fitohemijske analize. Uzimano je, po uzorku, uglavnom po četiri cveta i četiri lista sa različitih izdanaka iste jedinke. Suve čašice su lepljene na papir, dok su listovi pakovani u papirne kesice i snimljeni na lupi sa kalibracijom (Optika, Italija). Slike su obrađene i merene u programu Digimizer - 4.3.5 (2005-2015).

Morfometrijski karakteri lista su veoma varijabilni. Dodatnu varijabilnost unosi i postojanje gornjih (najkraćih), srednjih (nešto dužih) i donjih (najdužih) listova. Da bi rezultati bili uporedivi i da bi se izbegla dodatna konfuzija oko varijabilnosti, mereni su samo srednji listovi.

Merene su dužina (L_d) i širina lista ($L_{\check{s}}$), dužina od vrha lista do najšireg dela lista ($L_{rndn\check{s}}$), kao i broj žlezdanih trihoma na licu $1 \times 1 \text{ mm}$ ($L_{\check{z}}$) i naličju lista $1 \times 1 \text{ mm}$ ($L_{\check{z}n}$), te prisutvo nežlezdanih trihoma. Iz dobijenih podataka je računat i odnos dužine i širine lista (L_d/\check{s}). Kod čašice su mereni dužina (\check{C}_d) i širina ($\check{C}_{\check{s}}$), dužina gornjih (\check{C}_{dgz}) i donjih zupca (\check{C}_{ddz}), broj žlezdanih trihoma na spoljašnjem delu čašice $0,5 \times 0,5 \text{ mm}$ ($\check{C}_{\check{z}}$) (Slika 3.2).

Karakteristi su izabrani na osnovu Šilicevovog (1979) ključa za razdvajanje pomenutih vrsta i podvrsta.



Slika 3.2. Mereni morfološki karakteri; dužina (L_d) i širina lista ($L_{\check{s}}$), dužina od vrha lista do najšireg dela lista ($L_{rndn\check{s}}$), kao i broj žlezdanih trihoma na listu $1 \times 1 \text{ mm}$ ($L_{\check{z}}$), čašice su mereni dužina (\check{C}_d) i širina ($\check{C}_{\check{s}}$), dužina gornjih (\check{C}_{dgz}) i donjih zupca (\check{C}_{ddz}), broj žlezdanih trihoma na spoljašnjem delu čašice $0,5 \times 0,5 \text{ mm}$ ($\check{C}_{\check{z}}$); duži podeoci predstavljaju 1 mm na skali za čašicu

3.3. Fitohemijski markeri

3.3.1. Izolovanje površinskih flavonoida (aglikona)

Površinski flavonoidi su izolovani sa celih suvih listova (0,5 g) preliveanih sa 12 ml MeOH (HPLC grade, Promochem) tokom 5 min. Nakon filtracije su ostavljeni da upare do suva na sobnoj temperaturi. Dobijeni suvi ekstrakti su rastvoreni u 1 ml MeOH i profiltrirani kroz najlonski filter (0,45 μ m) u tamne vijale i čuvani u frižideru na +4°C do HPLC analize.

3.3.2. HPLC analiza flavonoida

Za HPLC analizu je korišćen Thermo HPLC UltiMate 3000, sa kolonom Acclaim™ PolarAdvantage II C18 (L=150 mm, r=4,6 mm, 3 μ m otvor). Temperatura kolone je održavana na 30 °C. Flavonoidi su detektovani pomoći DAD detektora (UltiMate 3000). Mobilna faza je bila gradijent tri rastvarača. Smeša rastvarača A (ddH₂O), rastvarača B (MeOH) i rastvarača C (1% FA u ACN) je proticala stalnim protokom od 1ml/min prema sledećem protokolu: 0-5 min (A : B : C = 90 : 0 : 10), 5-20 min gradijent (finalni odnos A:0%, B:90%, C:10%), 20-25 min je zadržan ovaj odnos (A : B : C = 0 : 90 : 10), 25-35 je promenjen odnos u početni (A : B : C = 0 : 90 : 10). Ubrizgavano je između 10 i 20 μ l ekstrakta. Kvantifikacija flavonoida je rađena na talasnoj dužini od 340 nm. Identifikacija flavonoida je izvršena pomoći UV spektara, ali i na osnovu masa komercijalnim snimanjem uzoraka na HPLC-DAD-MS pri istim uslovima (Jodrell Laboratory, Kew Garden, London, UK). Relativna kvantifikacija svih flavonoida je urađena na osnovu kalibracione krive formirane na osnovu poznatih koncentracija cirzimaritina (rastvori koncentracije 5-100 ng/ μ l). Apsolutna količina svakog flavonoida je izračunata poređenjem površina pikova analiziranih flavonoida i standarda cirzimaritina.

3.3.3. Izolovanje *n*-alkana

n-Alkani su izolovani iz celih suvih listova (0,5 g) potapanjem u *n*-heksan (HPLC grade, Promochem) 60 sekundi. Uzorci su profiltrirani i ostavljeni u digestoru da upare do suva na sobnoj temperaturi. Zatim su eluirani sa 4 ml *n*-heksana kroz mini-kolonu (pipeta

po Pasteru napunjena silika prahom prethodno aktiviranim na 120°C (Florasil® 50-100 mesh, Promochem). Dobijeni ekstrakti su koncentrovani do zapremine 0,5 ml i čuvan u tamnim vijalama na +4°C do GC-FID i GC-MS analize.

3.3.4. Izolovanje etarskog ulja

Radi lakšeg oslobađanja etarskog ulja – koje se kod vrsta roda *Satureja* nalazi u peltatnim žlezdanim trihomima na površini lista, i dobijanja većeg prinosa iz 2 do 10 g biljnog materijala (nadzemni deo biljke, listovi, stabljike i cvetovi) je usitnjeno u laboratorijskom blenderu (Waring 8010BU, USA). Usitnjeni materijal je preliven sa 250 ml destilovane vode, a izolacija je rađena metodom simultane hidro-destilacije i ekstrakcije dihlor-metanom (p.a. Alkaloid, Skoplje) Likens-Nikersonovom aparaturom (Chaintreau, 2001). Dobijena smeša ulja i dihlormetana (1 ml) je čuvana u tamnim vijalama na +4°C sve do GC-FID i GC-MS analize.

3.3.5. GC-MS analiza etarskog ulja i alkana

Prilikom GC-FID i GC-MS analize korišćen je GC sistem Agilent 7890A sa MSD Agilent 5975C i FID detektorom. Temperatura injektora (Agilent 7683B) za sve analize bila je 250°C. Injektovano je 1 µl uzorka, split odnos je bio 10:1. Noseći gas je bio helijum pod konstantnim pritiskom (1,0 ml/min, 210 °C). Razdvajanje je vršeno na koloni DB-5 (Agilent 19091S – 433), dužine 30 m unutrašnjeg prečnika 0,25 mm i debljine filma 0,25 µm. Temperatura kolone je linearno programirana od 60 °C do 300 °C sa promenom od 3 °C/min. Temperatura FID detektora bila je 230 °C. Opseg snimanja masenih spektara elektronske jonizacije (EI-MS; 70 eV) bio je 33-550 m/z.

Masena spektralna dekonvolucija i ekstrakcija vršena je pomoću programa AMDIS verzije 2.61 i MSD Chem Station verzije E.01.00.237m. Identifikacija jedinjenja urađena je pretragom tako dobijenih masenih spektara sa ADAMS i NIST05 komercijalnim bibliotekama masenih spektara, kao i poređenjem sa sopstvenom bibliotekom koja sadrži 4972 masena spektra. Dvostruka potvrda identifikacije jedinjenja dobijena je poređenjem eksperimentalno dobijenih retencionih indeksa (RI) sa literaturnim podacima iz ADAMS biblioteke. RI su eksperimentalno utvrđene korišćenjem standardnih metoda uključujući

retenciono vreme (t_R) n -alkana, koje su injektovane neposredno nakon uzoraka pod istim hromatografskim uslovima. Relativni udeo udeo identifikovanih jedinjenja je izračunat iz površine pika u GC-FID hromatogramu.

3.4. Statistička obrada

Morfometrija

Za analizu varijanse i box-plot analize korišćeni su netransformisani podaci (10 direktno merenih i 1 izvedeni). Za multivariacione analize korišćeni su transformisani podaci (\log_{10}).

Flavonoidi

Iz apsolutnih količina flavonoida izračunata je relativni udeo svakog pojedinčanog flavonoida u ekstraktu, kako bi se izbegla individualna razlika u količinama flavonoida između jedinki. U statističkim analizama je korišćena relativna (%) zastupljenost svake komponente izračunata kao masa te komponente podeljena sa ukupnom masom svih flavonoida identifikovanih u uzorku (m_A/m_{total}), kako bi se utvrdili flavonoidni profili kod svih ispitivanih uzoraka. Podaci nisu dodatno obrađivani.

n -Alkani

U statističkim analizama su pored relativnog udela pojedinih komponenti korišćene i izvedene vrednosti. Izračunata je srednja dužina lanca (N) kao i disperzija oko nje (d), prema formulama koje su predložili Dodd i Afzal-Rafii (2000):

$$\text{(Jednačina 1)} \quad N = \sum n_i p_i$$

$$\text{(Jednačina 2)} \quad d = \sum p_i (n_i - N)^2$$

Gde je n_i broj ugljenika i -tog alkana, a p_i njegov procentualni udeo u epikutikularnim voskovima. Za izračunavanje N i d korišćeni su samo alkani sa relativnim udelom većim od 1%.

Etarska ulja

Podaci za etarska ulja nisu dodatno obrađivani. Izračunat je udeo pojedinih grupa terpena (monoterpena, oksidovanih monoterpena, seskviterpena, oksidovanih seskviterpena, diterpena), kao i drugih alifatičnih i aromatičnih ugljovodonika u etarskom ulju. Prilikom univarijantnih i multivarijantnih testova korišćeni su samo podaci koji su pokazali normalnu distribuciju na celom setu podataka i koji nisu bili visoko korelisani ($r^2 < 0,7$) i koji su imali udeo veći od 0,1%.

Bioklimatski i orogeografski podaci

Bioklimatski parametri predstavljaju godišnje trendove (npr. srednja godišnja temperatura ili srednja temperatura najsuvljeg kvartala), sezonalnost (npr. godišnji raspon temperature i padavina), kao i ekstremne ili ograničavajuće faktore (npr. najniže i najviše temperature, najsuvlji i najvlažniji meseci itd.). Računati su na osnovu vrednosti mesečnih temperatura i padavina da bi se dobile varijable sa biološkim značajem. Period od 3 meseca je uzet kao kvartal ili perioda.

Klimatske karakteristike lokaliteta uzorkovanih populacija su preuzete iz WorldClim seta globalnih lejera (Hijmans i sar. 2005), i predstavljaju srednje vrednosti za 50-godišnji period. Ekstrakcija bioklimatskih i orogeografskih parametara je izvršena u programu DIVA-GIS 7.5 (Hijmans i sar. 2012).

Spisak bioklimatskih parametara:

BIO1 – srednja godišnja temperatura

BIO2 – srednji dnevni opseg (srednja vrednost razlike temperaturnih minimuma i maksimuma u – toku meseca)

BIO3 – izotermalnost $(BIO2/BIO7) \cdot 100$

BIO4 – temperaturna sezonalnost (standardna devijacija * 100)

BIO5 – najviša temperatura najtoplijeg meseca

- BIO6 – najniža temperatura najhladnijeg meseca
- BIO7 – temperaturni opseg (BIO5-BIO6)
- BIO8 – srednja temperatura najvlažnijeg kvartala
- BIO9 – srednja temperatura najsuvljeg kvartala
- BIO10 – srednja temperatura najtoplijeg kvartala
- BIO11 – srednja temperatura najhladnijeg kvartala
- BIO12 – ukupne godišnje padavine
- BIO13 – ukupne padavine u najvlažnijem mesecu
- BIO14 – ukupne padavine u najsušnijem mesecu
- BIO15 – sezonalnost padavina (koeficijent varijacije)
- BIO16 – ukupne padavine u najvlažnijem kvartalu
- BIO17 – ukupne padavine u najsušnijem kvartalu
- BIO18 – ukupne padavine u najtoplijem kvartalu
- BIO19 – ukupne padavine u najhladnijem kvartalu

Statistička obrada fitohemijskih i morfoloških karaktera

Za svaki set podataka je urađena osnovna statistika – srednja vrednost i standardne devijacije, histogrami, boks plot i matiks plot. Proverena je normalna distribucija podataka (*Shapiro-Wilkinson*-ov koeficijent). Univarijantna analiza varijanse (ANOVA) i neparametarski testovi (*Mann-Whitney*, *Kruskal-Wallis*) su korišćeni za utvrđivanje karaktera koji grupišu/razlikuju populacije. U slučaju potrebe varijable su *log*-transformisane (*box-cox* transformacija, Jednačina 3) kako bi se dobila normalna distribucija. Takođe, korišćena je linearna korelacija između parametara radi utvrđivanja potencijalne veze između različitih komponenti proučavanih fitohemijskih markera (flavonoida, alkana i etarskih ulja) i morfoloških karaktera.

$$(Jednačina 3) \quad y = \begin{cases} \frac{x^\lambda - 1}{\lambda} & \lambda \neq 0 \\ \ln x & \lambda = 0 \end{cases}$$

Multivariacione metode koje su korišćene su: analiza glavnih komponenti (PCA), diskriminantna analiza (DA), hijerahijska klaster analiza (HCA), kao i testovi koji služe da ukažu na tendenciju i struktuiranje skupa, kao i odnos individua i karaktera. Testirano je

više klaster metoda (UPGMA, *nearest-neighbour*, *Ward*-ova metoda) i metoda računanja distanici (*Euclidian*, *Sq. Mahalanobis*, *Gower*), kako bi se izabrale najadekvatnije. Mantelov i parcijalni Mantelov test su korišćeni za utvrđivanje korelacije između variranja karaktera i bioklimatskih i geografskih karakteristika.

Prilikom statističke obrade rezultata fitohemijskih i morfoloških markera korišćeni u Past v.3.18 (Hammer i sar. 2001).

4. Rezultati

4.1. Morfometrija

4.1.1. Varijabilnost morfoloških karaktera *Satureja montana*

Univarijantne analize

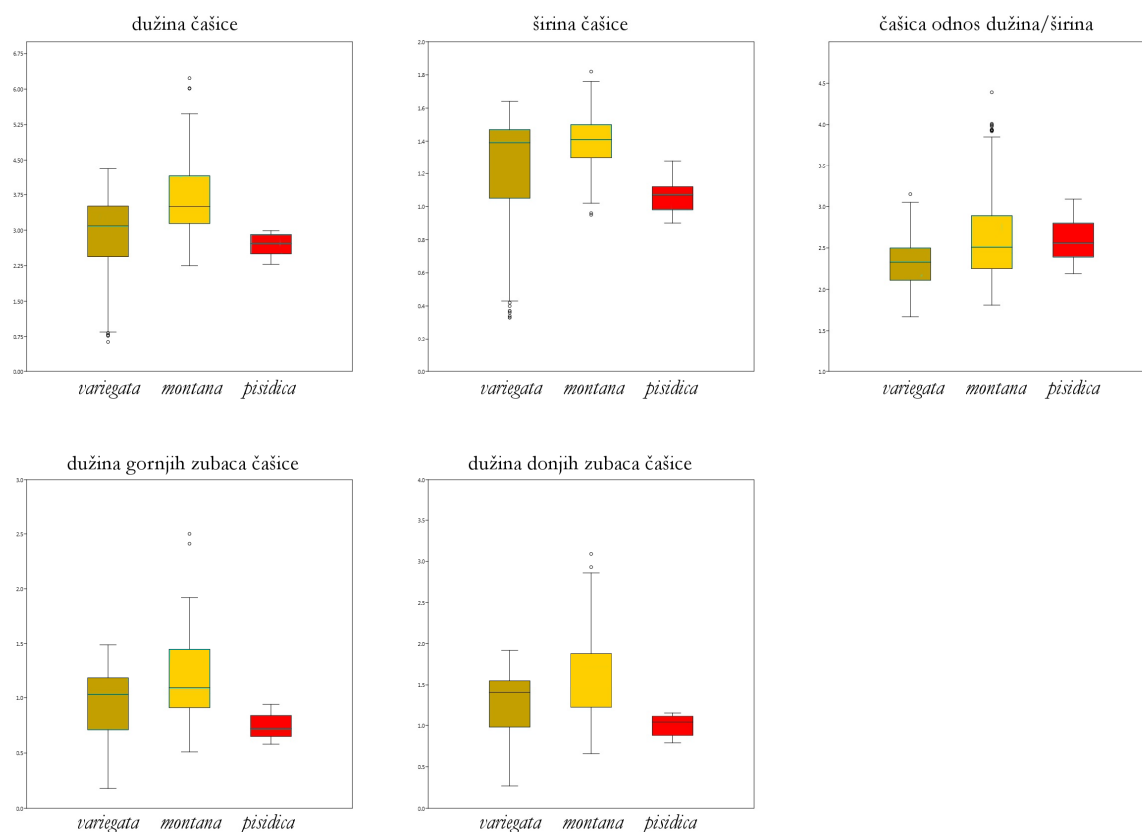
Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 14 populacija vrste *Satureja montana*, uključujući populacije sve tri podvrste: ssp. *variegata* (5 populacija), ssp. *montana* (8 populacija) i ssp. *pisidica* (1 populacija) (Tabela 4.1.1.1 i Prilog A1). Takođe, uzeti su u obzir svi morfološki karakteri, njih 12. Urađena je i *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$). Pokazano je da se na svega nekoliko karaktera i to isključivo karaktera vezanih za čašicu (izuzev broja žlezdanih trihoma na čašici), mogu diferencirati podvrste. Varijabilnost karaktera vezanih za list je tolika da ne postoji diferencijacija između taksona. Međutim, na osnovu *post-hoc* testa nije bilo moguće razlikovati sve tri podvrste na osnovu ijednog od karaktera. Na osnovu pojedinih karaktera se mogu razlikovati neke od podvrsta, npr. na osnovu dužine i širine čašice, odnosa dužine i širine čašice, dužine donjih i dužine gornjih zubaca se razlikuje podvrsta *montana* od druge dve podvrste. Uprkos tome, nijedan karakter nije pokazao jasnu diferencijaciju između podvrsta *variegata* i *pisidica*.

Tabela 4.1.1.1. Varijabilnost morfoloških karaktera kod podvrsta *S. montana*

	<i>F</i>	<i>P</i>	ssp. <i>variegata</i> n=66	ssp. <i>montana</i> n=113	ssp. <i>pisidica</i> n=15
Dužina lista	2.4	-	14.2 ± 2.8 ^a	14.9 ± 3.5 ^a	16.0 ± 3.0 ^a
Širina lista	0.7	-	2.9 ± 0.5 ^a	3.0 ± 1.0 ^a	3.0 ± 0.5 ^a
List dužina/širina	2.0	-	4.9 ± 0.9 ^a	5.1 ± 1.2 ^a	5.5 ± 0.7 ^a
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	0.8	-	4.9 ± 1.2 ^a	5.1 ± 1.5 ^a	5.2 ± 1.2 ^a
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	1.4	-	10.0 ± 3.7 ^a	9.3 ± 3.1 ^a	8.9 ± 3.7 ^a
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	0.5	-	12.2 ± 4.1 ^a	12.6 ± 4.7 ^a	11.5 ± 3.1 ^a
Dužina čašice	32.9	***	2.7 ± 1.1 ^a	3.7 ± 0.8	2.7 ± 0.3 ^a
Širina čašice	20.6	***	1.2 ± 0.4 ^a	1.4 ± 0.2	1.1 ± 0.2 ^a
Časica dužina/širina	12.1	***	2.3 ± 0.3 ^a	2.7 ± 0.6 ^b	2.6 ± 0.4 ^{ab}
Dužina gornjih zubaca čašice	17.7	***	0.9 ± 0.4 ^a	1.2 ± 0.4	0.7 ± 0.2 ^a
Dužina donjih zubaca čašice	17.5	***	1.2 ± 0.5 ^a	1.6 ± 0.5	1.0 ± 0.2 ^a
Broj žlezdanih trihoma čašice	2.0	-	4.3 ± 1.4 ^a	4.7 ± 1.5 ^a	4.5 ± 2.0 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Vrednosti su date kao srednja vrednost ± SD; *** $P < 0,01$; - $P > 0,05$

Slika 4.1.1.1. prikazuje boks plotove karaktera koji su pokazali statistički značajnu razliku u varijabilnosti između podvrsta. Najveću varijabilnost pokazuje ssp. *variegata* za širinu čašice dok najmanju varijabilnost na svim karakteristikama pokazuje podvrsta *pisidica*, što je verovatno posledica malog uzorka u ovoj analizi.



Slika 4.1.1.1. Varijabilnost morfoloških karaktera po podvrstama *S. montana*

Analiza varijanse (ANOVA) svih populacija vrste *S. montana* je pokazala statistički značajno odvajanje na osnovu svih karaktera. *Post-hoc* test je dodatno objasnio odvajanje. Dok karakteri čašice pokazuju jako odvajanje podvrsta, populacije se odvajaju na različite načine. Na primer, populacija iz Zvornika se razlikuje u odnosu na sve ostale populacije na osnovu oblika lista (širine i visine najšireg dela lista) i veličine čašice i zubaca čašice. Vodnjan se razlikuje od gotovo svih ostalih na osnovu broja žlezdanih trihoma na licu lista i na čašici, kao i veličini čašice i dužine njenih donjih zubaca. Jadranovo se razlikuje od nekih populacija više na osnovu karaktera lista i to širina lista i odnos dužine i širine lista.

Neretva se razlikuje od ostalih na osnovu karaktera čašice osim odnosa dužine i širine čašice, dok se Makarska i Zlobin razlikuju od ostalih na osnovu razdaljine između najšireg dela i vrha lista. Svi ovi rezultati govore o izuzetno velikoj varijabilnosti izmerenih karaktera vegetativnih organa i diferencijaciji populacija na osnovu njih (uvek nekonzistentno) i potvrđuju značaj čašice kao karaktera za diferencijaciju podvrsta.

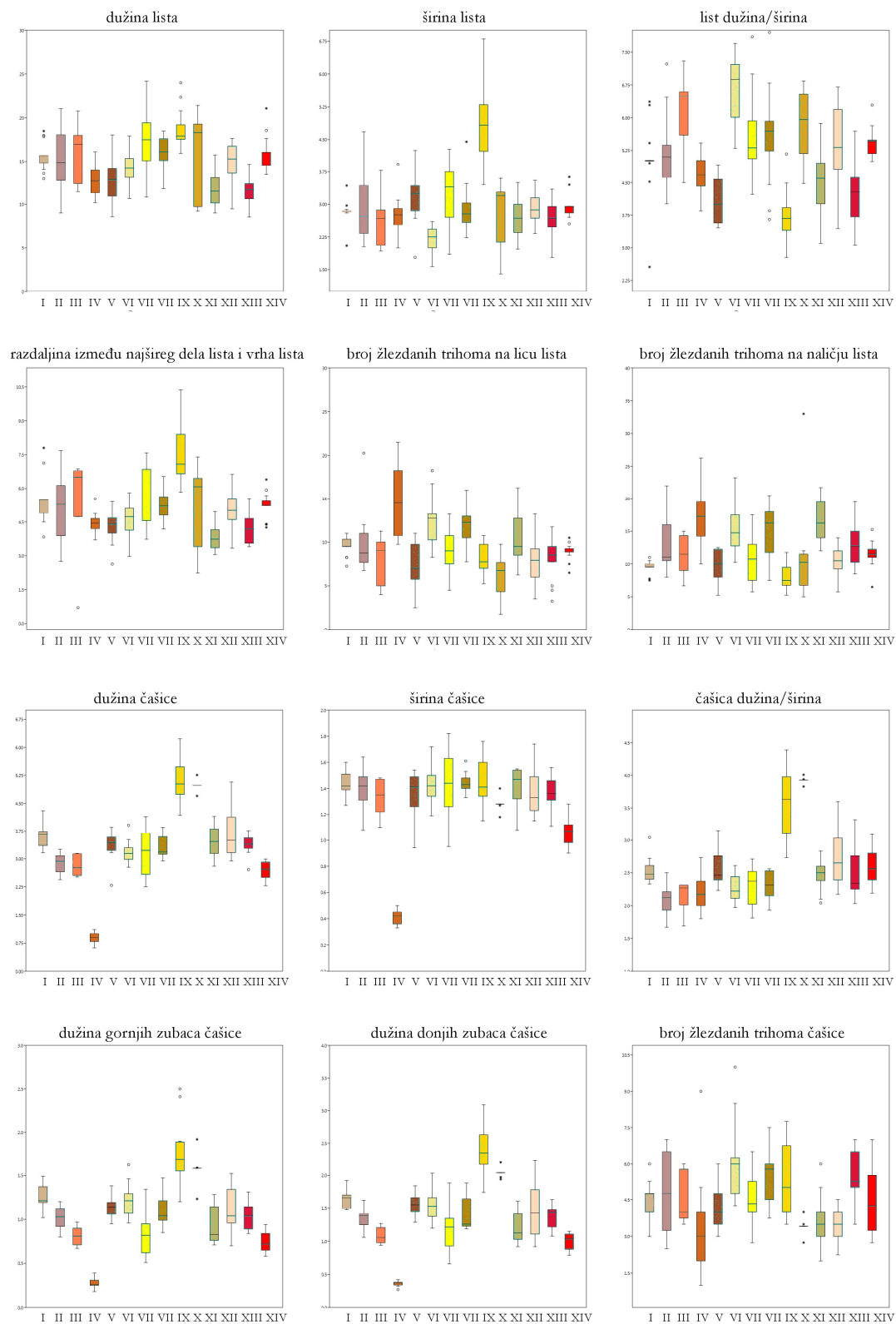
Slični rezultati se vide i na boks plotovima (Slika 4.1.1.2). Zvornik se izdvaja po širini lista, razdaljini između najšireg dela i vrha lista, te ostalih karaktera čašice (dužini čašice, čašica odnos dužine i širine i donjih i gornjih zubaca čašice). Vodnjan se razlikuje od ostalih na osnovu veličine čašice i dužine gornjih i donjih zubaca čašice kao i broja žlezdanih trihoma čašice. Najveća varijabilnost unutar populacija je kod odnosa dužine i širine lista, dakle njegovog oblika od izduženo eliptičnog do izduženo jajastog. Ostali karakteri u svim populacijama manje-više slično variraju, iako su razlike na svim karakteristikama statistički značajne.

Tabela 4.1.1.2. Varijabilnost morfoloških karaktera kod svih populacija *S. montana*

			ssp. <i>variegata</i>	ssp. <i>variegata</i>	ssp. <i>variegata</i>	ssp. <i>variegata</i>	ssp. <i>variegata</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>pisidica</i>
	<i>F</i>	<i>P</i>	Bovec n=14	Crnivrh n=15	Divača n=7	Vodnjan n=15	Krk n=15	Jadranovo n=13	Zlobin n=15	Sibinj n=15	Zvornik n=15	Neretva n=10	Makarska n=15	Gacko n=15	Mokrine n=15	Galičica n=15
Dužina lista	9.5	***	15.7 ± 2.8 ^w	15.1 ± 3.5 ^w	16.0 ± 3.3 ^w	12.7 ± 2.2 ^w	12.8 ± 2.6 ^w	14.3 ± 2.5 ^w	17.2 ± 3.7 ^w	16.0 ± 2.4 ^w	18.4 ± 2.6 ^w	14.9 ± 5.4 ^w	11.8 ± 2.2 ^w	15.0 ± 2.6 ^w	11.5 ± 2.5 ^w	16.0 ± 3.0 ^w
Širina lista	19.1	***	2.8 ± 0.6 ^w	2.9 ± 0.8^{abd}	2.7 ± 0.7 ^w	2.8 ± 0.5 ^w	3.2 ± 0.7^{abd}	2.2 ± 0.4^{ac}	3.2 ± 0.8^{abd}	2.9 ± 0.6^{abd}	5.0 ± 1.0^e	2.7 ± 1.1 ^w	2.7 ± 0.6 ^w	2.9 ± 0.4 ^w	2.7 ± 0.5 ^w	3.0 ± 0.5^{ab}
List dužina/širina	15.4	***	5.0 ± 2.0 ^w	5.2 ± 1.4 ^w	6.1 ± 1.0 ^w	4.7 ± 0.6 ^w	4.1 ± 0.8 ^w	6.6 ± 1.0^{efi}	5.6 ± 1.0 ^w	5.6 ± 1.4 ^w	3.7 ± 0.9 ^w	5.7 ± 1.2 ^w	4.5 ± 0.8 ^w	5.3 ± 1.0 ^w	4.5 ± 0.7 ^w	5.5 ± 0.7 ^w
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	10.6	***	5.4 ± 2.0 ^w	5.1 ± 1.5 ^w	5.2 ± 2.3 ^w	4.4 ± 0.7 ^w	4.3 ± 0.9 ^w	4.6 ± 1.0 ^w	5.6 ± 1.4^{abg}	5.2 ± 0.9 ^w	7.4 ± 1.5^d	4.9 ± 1.9 ^w	3.8 ± 0.8^{bef}	5.0 ± 1.2 ^w	4.2 ± 0.9 ^w	5.2 ± 1.2 ^w
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	11.4	***	9.4 ± 2.6 ^w	9.9 ± 4.1 ^w	8.3 ± 3.1 ^w	14.5 ± 4.9^{ceg}	7.2 ± 3.1 ^w	12.5 ± 3.5 ^w	8.7 ± 3.1 ^w	11.8 ± 3.3 ^w	7.9 ± 2.5 ^w	6.2 ± 2.8 ^w	10.5 ± 3.3 ^w	8.0 ± 4.6 ^w	8.2 ± 3.3 ^w	8.9 ± 3.7 ^w
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	9.9	***	9.4 ± 2.6 ^w	12.6 ± 4.7 ^w	11.4 ± 3.3 ^w	17.2 ± 5.0 ^w	9.8 ± 3.2 ^w	15.5 ± 4.7 ^w	10.8 ± 4.1 ^w	15.1 ± 4.7 ^w	7.9 ± 2.6 ^w	11.2 ± 14.8 ^w	16.7 ± 4.2 ^w	10.4 ± 3.3 ^w	13.0 ± 4.4 ^w	11.5 ± 3.1 ^w
Prisustvo sitnih žlezda na listu ¹⁾			-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
Dužina čašice	99.2	***	3.6 ± 0.4 ^w	2.9 ± 0.3 ^w	2.8 ± 0.4 ^w	0.9 ± 1.6^d	3.4 ± 0.6 ^w	3.2 ± 0.4 ^w	3.2 ± 1.0 ^w	3.3 ± 0.4 ^w	5.1 ± 0.7^h	5.0 ± 0.5^h	3.4 ± 0.5 ^w	3.7 ± 1.0 ^w	3.4 ± 0.3 ^w	2.7 ± 0.3^{bc}
Širina čašice	53.5	***	1.4 ± 0.2^{acd}	1.4 ± 0.2^{acd}	1.3 ± 0.2^{acd}	0.4 ± 0.7^b	1.3 ± 0.3^{acd}	1.4 ± 0.2^{acd}	1.4 ± 0.5^{acd}	1.4 ± 0.1^{acd}	1.5 ± 0.3^{ac}	1.3 ± 0.2^{ad}	1.4 ± 0.2^{acd}	1.4 ± 0.3^{acd}	1.4 ± 0.2^{acd}	1.1 ± 0.2^e
Časica dužina/širina	39.9	***	2.5 ± 0.3 ^a	2.1 ± 0.3 ^a	2.1 ± 0.3 ^a	2.2 ± 0.3 ^a	2.5 ± 0.4 ^a	2.3 ± 0.3 ^a	2.3 ± 0.4 ^a	2.3 ± 0.3 ^a	3.5 ± 0.7 ^a	3.9 ± 0.5 ^a	2.5 ± 0.4 ^a	2.7 ± 0.5 ^a	2.5 ± 0.4 ^a	2.6 ± 0.4 ^a
Dužina gornjih zubaca čašice	50.5	***	1.2 ± 0.2 ^w	1.0 ± 0.2 ^w	0.8 ± 0.2 ^w	0.3 ± 0.5 ^w	1.1 ± 0.3 ^w	1.2 ± 0.3 ^w	0.8 ± 0.4 ^w	1.1 ± 0.3 ^w	1.7 ± 0.5^f	1.2 ± 0.8ⁱ	0.9 ± 0.3 ^w	1.1 ± 0.4 ^w	1.0 ± 0.2 ^w	0.7 ± 0.2 ^w
Dužina donjih zubaca čašice	60.0	***	1.6 ± 0.2 ^w	1.3 ± 0.2 ^w	1.1 ± 0.2 ^w	0.4 ± 0.6^d	1.6 ± 0.3 ^w	1.5 ± 0.3 ^w	1.2 ± 0.4 ^w	1.4 ± 0.3 ^w	2.4 ± 0.5^h	1.5 ± 0.9ⁱ	1.2 ± 0.3 ^w	1.5 ± 0.5 ^w	1.4 ± 0.2 ^w	1.0 ± 0.2^{ef}
Broj žlezdanih trihoma čašice	7.2	***	4.5 ± 1.6 ^w	4.8 ± 2.1 ^w	4.5 ± 1.6 ^w	3.5 ± 1.9^{abc}	4.2 ± 1.7 ^w	6.1 ± 2.4 ^w	4.6 ± 1.6 ^w	5.5 ± 1.8 ^w	5.5 ± 2.2 ^w	3.4 ± 1.2^{abc}	3.5 ± 1.5^{abc}	3.4 ± 1.1^{abc}	5.6 ± 1.8 ^w	4.5 ± 2.0 ^w

ANOVA i post-hoc test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,w} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$), pri čemu ^w grupu čine više sličnih odnosno različitih populacija; Vrednosti su date kao srednja vrednost ± SD; masnim slovima su označene vrednosti koje su različite

¹⁾deskriptivni karakter koji nije korišćen u statističkim analizama, *** $P < 0,01$.



Slika 4.1.1.2. Varijabilnost morfoloških karakterata po populacijama *S. montana* ssp. *variegata*: I-Bovec; II-Crni vrh; III-Divača; IV-Vodnjan; V-Krk; ssp. *montana*: VI-Jadranovo; VII-Zlobin; VIII-Sibinj; IX-Zvornik; X-Neretva; XI-Makarska; XII-Gacko; XIII-Mokrine; ssp. *pisidica*: XIV-Galičica

Test linearne regresije (Tabela 4.1.1.3) je pokazao da Pirsonov koeficijent korelacije pokazuje umerenu korelaciju između karaktera širine lista sa dužinom lista i razdaljinom između najšireg dela i vrha lista. Visoka korelacija je utvrđena između dužine lista i razdaljine između najšireg dela lista i vrha lista i parametara vezanih za čašicu, dužina čašice je korelisana sa širinom, dužina gornjih zubaca je korelisana sa dužinom donjih zubaca, a svi ovi karakteri čašice su i međusobno visoko korelisani, što govori da su čašice istog oblika. Slična je situacija i kod listova gde uočene korelacije govore da su listovi izduženo eliptični i najširi na istom mestu.

Tabela 4.1.1.3. Linearna korelacija između morfometrijskih parametara

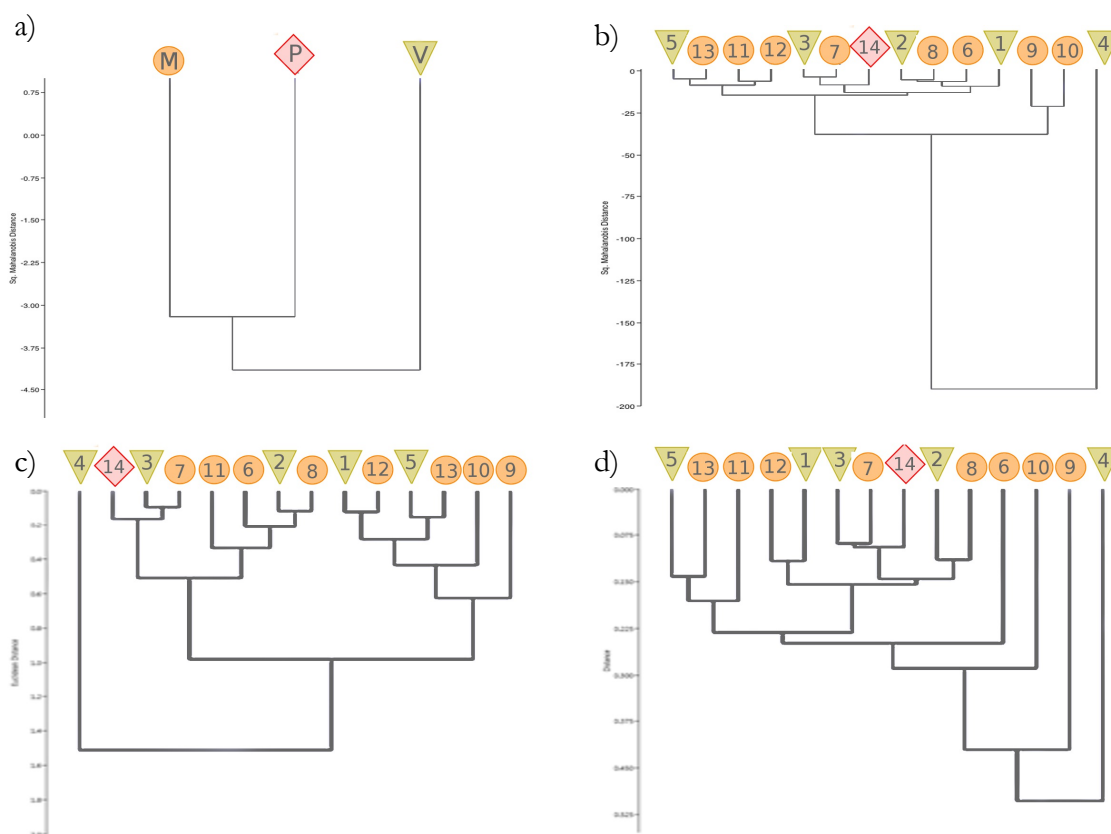
	Ld	Ls	Ld/š	Lrndnš	Lžl	Lžn	Čd	Čš	Čd/š	Čgz	Čdz	Čž
Ld		0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.06	0.01	0.01	0.00	0.16
Ls	0.63		0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.28	0.00	0.01	0.00	0.65
Ld/š	0.25	-0.54		0.84	0.66	0.02	0.32	0.94	0.02	0.28	0.20	0.41
Lrndnš	0.80	0.67	-0.01		0.34	0.00	0.01	0.23	0.00	0.00	0.00	0.12
Lžl	-0.15	-0.15	0.03	-0.07		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.39
Lžn	-0.47	-0.53	0.17	-0.42	0.63		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.74
Čd	0.20	0.21	-0.07	0.18	-0.41	-0.41		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Čš	0.13	0.08	0.01	0.09	-0.30	-0.30	0.89		0.17	0.00	0.00	0.00
Čd/š	0.20	0.31	-0.16	0.22	-0.33	-0.36	0.55	0.10		0.00	0.00	0.17
Čgz	0.19	0.20	-0.08	0.21	-0.34	-0.40	0.92	0.81	0.52		0.00	0.00
Čdz	0.23	0.24	-0.09	0.23	-0.37	-0.42	0.95	0.83	0.53	0.97		0.00
Čž	0.10	0.03	0.06	0.11	0.06	-0.02	0.23	0.33	-0.10	0.27	0.27	

Ld- dužina lista; *Ls*- širina lista; *Ld/š*-list odnos dužina/širina; *Lrndnš*- razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista; *Lžl*- broj žlezdanih trihoma na licu lista ; *Lžn*- broj žlezdanih trihoma na naličju lista; *Čd*-dužina čašice; *Čš*- širina čašice; *Čd/š*- čašica odnos dužina/širina; *Čgz*- dužina gornjih zubaca čašice; *Čdz*- dužina donjih zubaca čašice; *Čž*- broj žlezdanih trihoma čašice; iznad dijagonale su date *P* vrednosti; ispod dijagonale su dati Pirsonovi koeficijenti korelacije *R*; masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti gde je $-0,7 < R < 0,7$.

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na log-transformisanim prosečnim vrednostima svih 12 analiziranih morfometrijskih karaktera (Slika 4.1.1.3.) (Euklidske distance) pokazuje formiranje tri grupe, najudaljenija ssp. *variegata* a nešto bliže (sličnije) su ssp. *montana* i ssp. *pisidica*. Dendrogram baziran na svim karakteristikama i svim populacijama *S. montana* pokazuje različito grupisanje klada u zavisnosti od vrste distanci koje su korišćene za izračunavanje. Zajedničko im je da svi odvajaju Vodnjan kao najudaljeniju, sličan

raspored grupa se dobija korišćenjem kvadriranih Mahalanobisovih distanci i Gowerovih, dok se Euklidske distance najviše razlikuju. Međutim, nijedna ne pokazuje jasno grupisanje podvrsta, što govori o velikoj varijabilnosti proučavanih karaktera unutar ove vrste. Čak i kada se uzmu samo karakteri cveta koji su se u analizi varijanse pokazali statistički značajni za odvajanje populacija ovde ne daju mnogo jasniju sliku.



Slika 4.1.1.3. Hijerarhijska klaster analiza transformisanih 12 morfometrijskih karaktera podvrsta i populacija *S. montana*

a) podvrste; b) kvadrirane Mahalanobisove distance populacija; c) Euklidske distance populacija; d) Gowerove distance populacija;

V-ssp. *variegata*: 1-Bovec; 2-Crni vrh; 3-Divača; 4-Vodnjan; 5-Krk; *M*-ssp. *montana*: 6-Jadranovo; 7-Zlobin; 8-Sibinj; 9-Zvornik; 10-Neretva; 11-Makarska; 12-Gacko; 13-Mokrine; *P*-ssp. *pisidica*: 14-Galičica;

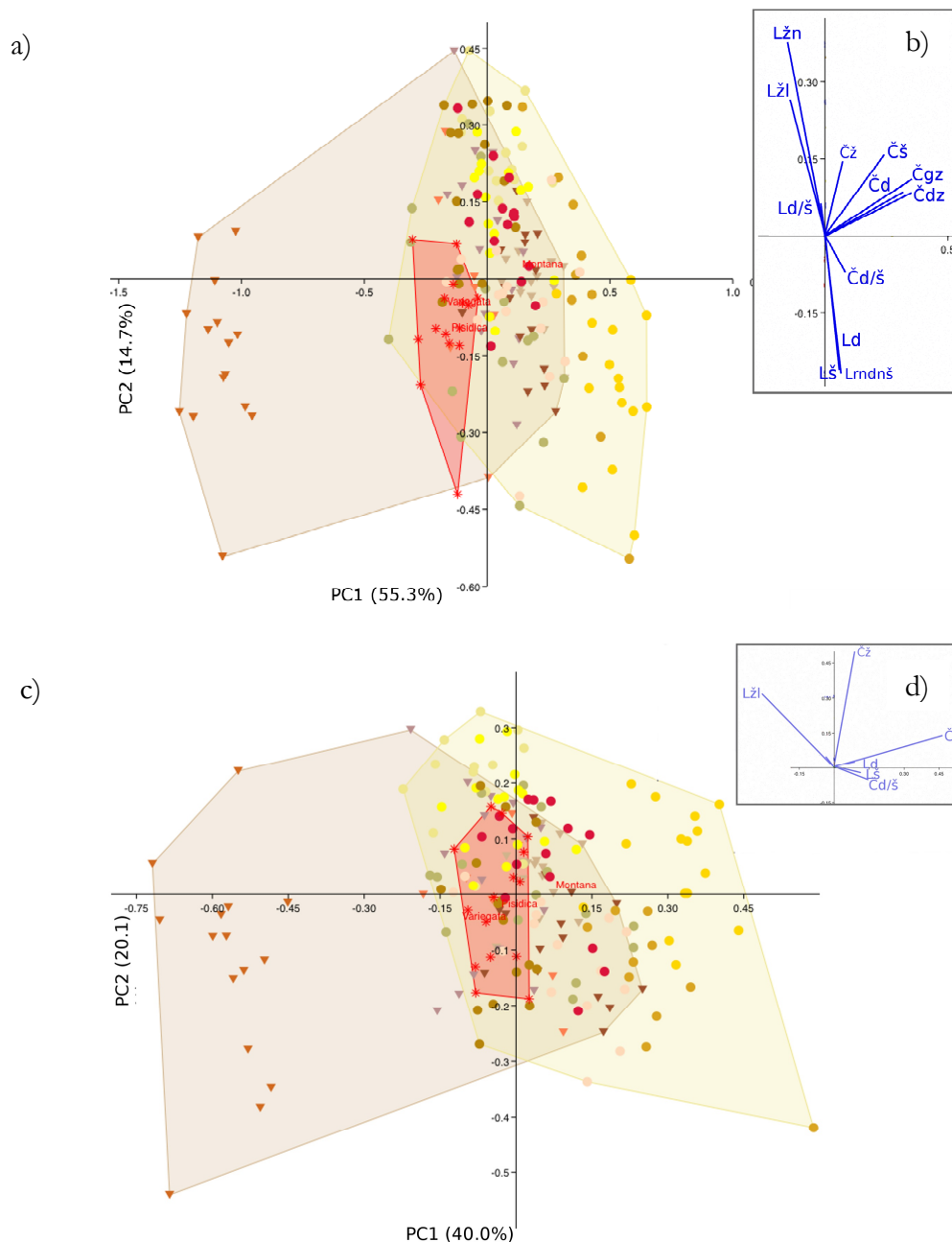
Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost transformisanih (logX) 12 moroloških karaktera kod 194 individue je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose ove analize objašnjavaju 60,1 % ukupne varijabilnosti kada su u pitanju nekorelisane komponente, dok

ceo set podataka objašnjava 70% ukupne varijabilnosti na istom broju osa (Slika 4.1.1.4). Značajan broj karaktera se pokazao kao značajan, poput broja žlezdanih trihoma, oblika lista, kao i karaktera čašice. PCA pokazuje veliku varijabilnost unutar podvrsta *variegata* i *montana*. Takođe, jasno se odvaja populacija Vodnjan sa jedne strane, i populacije Zvornik i Neretva, sa druge strane, dok su ostale populacije preklopljene. Vodnjan se odvaja od ostalih *variegata* na osnovu manjih vrednosti vezanih za čašicu i većih za broj žlezdanih dlaka na licu lista, a Zvornik i Neretva upravo po većim vrednostima za pomenute karaktere. Ostale populacije se nalaze preklopljene oko osa, gde se podvrsta *pisidica* nalazi između *variegata* i *montana*.

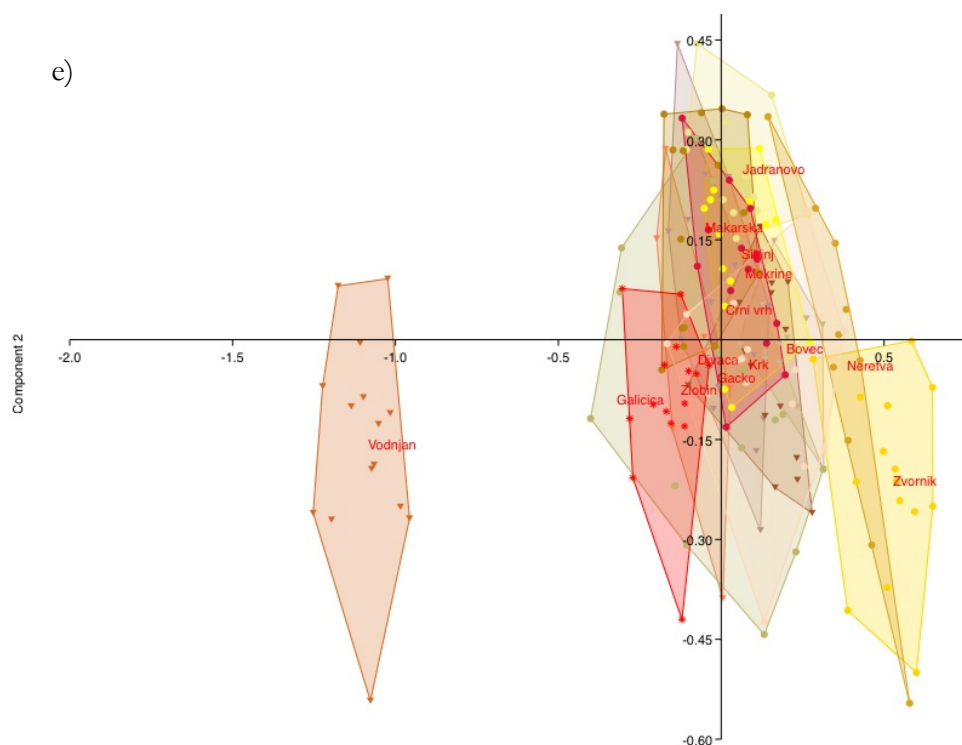
Tabela 4.1.1.4. Udeo 12 morfometrijskih karaktera u prva tri vektora

	sve komponente			nekorelisane komponente		
	PC 1	PC 2	PC 3	PC 1	PC 2	PC 3
Dužina lista	0.08	-0.29	0.30	0.15	0.03	0.38
Širina lista	0.09	-0.38	0.30	0.19	-0.04	0.75
List dužina/širina	-0.02	0.09	0.00	-0.06	0.07	-0.39
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	0.10	-0.39	0.48			
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	-0.20	0.38	0.59	-0.51	0.52	0.33
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	-0.22	0.55	0.10			
Dužina čašice	0.47	0.12	-0.06	0.77	0.22	-0.09
Širina čašice	0.35	0.23	0.00			
Časica dužina/širina	0.12	-0.11	-0.06	0.25	-0.10	0.12
Dužina gornjih zubaca čašice	0.51	0.16	0.03			
Dužina donjih zubaca čašice	0.51	0.12	0.03			
Broj žlezdanih trihoma čašice	0.11	0.21	0.47	0.15	0.82	-0.11



Slika 4.1.1.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

a) sve tri podvrste i svi morfološki karakteri; b) sve tri podvrste na osnovu nekoreliranih karaktera; c) glavne komponente uključujući korelirane; d) glavne komponente bez koreliranih; ▴ Bovec; ▴ Crni vrh; ▴ Divača; ▴ Vodnjan; ▴ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Zvornik; ● Neretva ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica; L_d - dužina lista; L_s - širina lista; L_{rmdn} - razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista; $L_{\check{z}}$ - broj žlezdanih trihoma na licu lista; $L_{\check{z}n}$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $\check{C}d$ -dužina čašice; $\check{C}s$ - širina čašice; $\check{C}d/s$ - čašica odnos dužina/širina; $\check{C}gz$ - dužina gornjih zubaca čašice; $\check{C}d_{\check{z}}$ - dužina donjih zubaca čašice; $\check{C}_{\check{z}}$ - broj žlezdanih trihoma čašice.



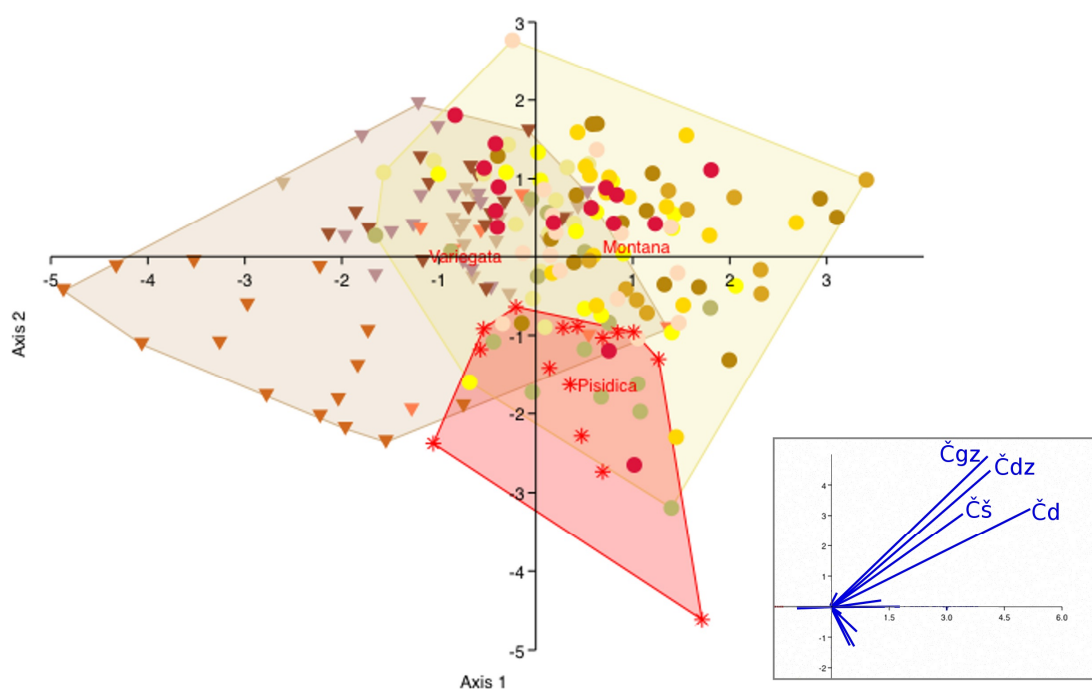
(nastavak slike 4.1.1.4). Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

e) sve populacije; ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Zvornik; ● Neretva ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Grupe su bile bazirane na podvrstama (Slika 4.1.1.5.) i na populacijama (Slika 4.1.1.6). Prva diskriminantna funkcija objašnjava 76,9 %, dok druga objašnjava 23,1% ukupne varijabilnosti kada su u pitanju podvrste, a nešto manje vrednosti su kada su u pitanju populacije (70,0% i 13,6%, redom). DA sa podvrstama kao grupama je pokazala blago odvajanje podvrsta uz dosta preklapanja. Odvajanje podvrsta je na osnovu karaktera čašice. Najviše se odvaja podvrsta *pisidica*, međutim, 13 jedinki podvrste *variegata* (od 67) i 32 (od 113) od podvrste *montana* na osnovu matrice konfuzije pripadaju drugoj podvrsti. Na primer, 8 jedinki podvrste *variegata* na osnovu merenih morfoloških karaktera (ukupnih) pripadaju podvrsti *montana* a 5 podvrsti *pisidica*. S druge strane, 13 jedinki podvrste *montana* bi trebalo svrstati u podvrstu *variegata* a 19 u podvrstu *pisidica* (Tabela 4.1.1.5). Međutim, jedan od karaktera koji se navodi u literaturi da razdvaja podvrstu *pisidica* od druge dve je i dlakavost stabljike, koji nije korišćen u ovim analizama.

DA sa populacijama je dala zanimljive rezultate slične rezultatima sa PCA. Najviše se odvajaju Vodnjan od svih populacija *variegata*, a Zvornik i Neretva od podvrste *montana*. To su ujedno i jedine populacije ovih podvrsta koje su ostale cele, tj. nijedna jedinka nije na osnovu karaktera prebačena u drugu populaciju. Ostale populacije podvrsta *variegata* i *montana* imaju toliku varijabilnost na izmerenim morfološkim karakteristikama, da se “šetaju” između populacija, a pojedine jedinke i između podvrsta (Tabela 4.1.1.6). Populacija iz Zlobina je pokazala ubedljivo najveću varijabilnost, tek je 1/3 jedinki ostala karakteristična za tu populaciju, dok je preostalih 2/3 razmešteno u različite populacije sve tri podvrste. Populacija *pisidica* se drži nezavisno od ostalih, iako je pokazala na prve dve ose preklapanje sa ostalim populacijama. Karakteri koji najviše doprinose odvajanju populacije Vodnjan, sa jedne strane, i populacija Zvornik i Neretva sa druge, su vezani za karaktere čašice.



Slika 4.1.1.5. Scatter plot diskriminantne analize podvrsta *S. montana*

a) sve tri podvrste; b) glavne komponente; ▴ Bovec; ▴ Crni vrh; ▴ Divača; ▴ Vodnjan; ▴ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Zvornik; ● Neretva ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica; Čd-dužina čašice; Čš- širina čašice; Čgz- dužina gornjih zubaca čašice; Čdz- dužina donjih zubaca čašice;

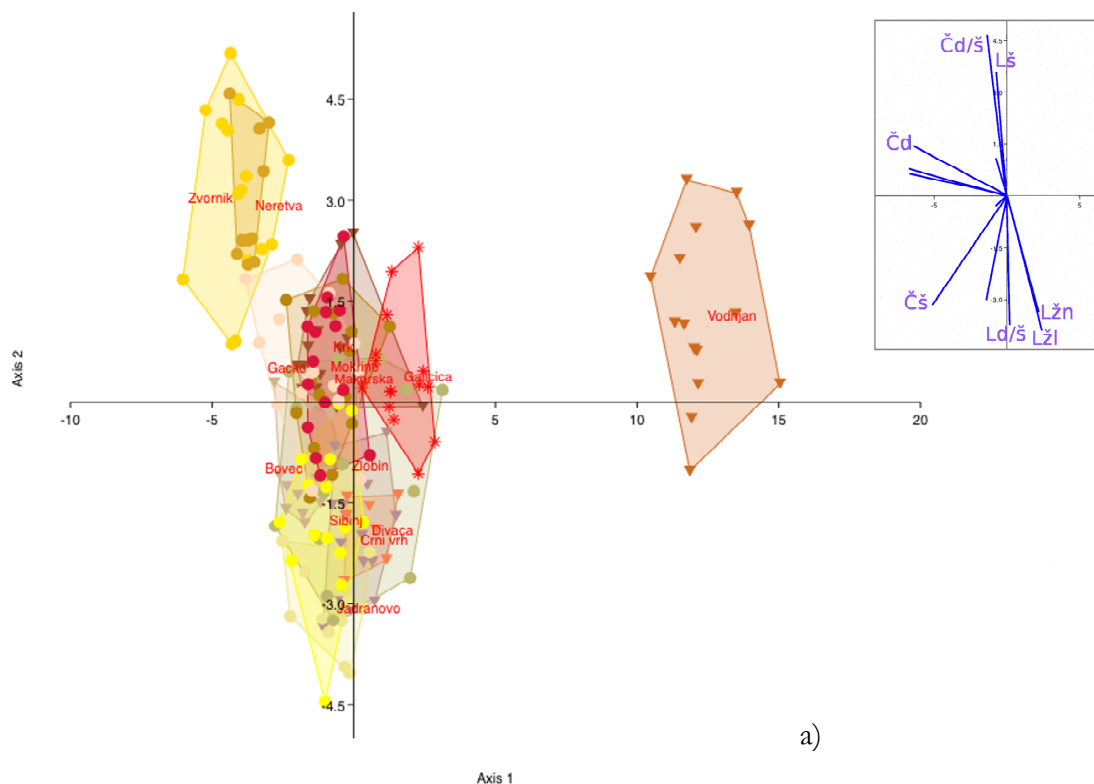
Tabela 4.1.1.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, grupe su podvrste

	<i>variegata</i>	<i>montana</i>	<i>pisidica</i>	Σ
<i>variegata</i>	54	8	5	67
<i>montana</i>	13	81	19	113
<i>pisidica</i>	0	0	15	15
Σ	67	89	39	195

Tabela 4.1.1.6. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, grupe su populacije

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	Σ
I	12	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	15
II	1	11	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	15
III	0	1	4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	7
IV	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
V	0	1	0	0	12	0	0	0	0	0	0	1	1	0	15
VI	0	1	0	0	0	11	0	1	0	0	0	0	0	0	13
VII	0	2	2	0	2	0	5	0	0	0	0	1	0	3	15
VIII	1	0	0	0	1	1	2	10	0	0	0	0	0	0	15
IX	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	15
X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10
XI	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	12	1	0	1	15
XII	0	0	0	0	2	0	2	0	0	1	1	9	0	0	15
XIII	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	1	10	0	15
XIV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	15
Σ	14	17	6	15	20	14	12	13	15	11	14	14	11	19	195

ssp. *variegata*: I-Bovec; II-Crni vrh; III-Divača; IV-Vodnjan; V-Krk; ssp. *montana*: VI-Jadranovo; VII-Zlobin; VIII-Sibinj; IX-Zvornik; X-Neretva; XI-Makarska; XII-Gacko; XIII-Mokrine; ssp. *pisidica*: XIV-Galičica; Σ - ukupno

Slika 4.1.1.6. Scatter plot diskriminantne analize populacija *S. montana*

a) sve populacije b) glavne komponente ; ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibiň; ● Zvornik; ● Neretva ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrinska; * Galičica; $L_{\check{s}}$ - širina lista; Ld/\check{s} - list odnos dužina/širina; $L_{\check{z}}$ - broj žlezdanih trihoma na licu lista; $L_{\check{z}n}$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $\check{C}d$ - dužina čašice; $\check{C}\check{s}$ - širina čašice; $\check{C}d/\check{s}$ - čašica odnos dužina/širina;

Bioklimatski podaci

Rezultati jednostavne linearne regresione analize (Tabela 4.1.1.7) sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom su pokazali da je svega nekoliko karaktera, uglavnom karaktera čašice, bilo u korelaciji sa bioklimatskim parametrima i to onim vezanim za temperaturu (srednji dnevni opseg (BIO2), sezonskom varijabilnosti temperature (BIO4), najviša temperatura najtoplijeg meseca (BIO5) i raspon godišnje temperature (BIO7)). Nijedan morfološki karakter nije pokazao korelaciju sa nadmorskom visinom. Parametri čašice pojedinačno su u korelaciji sa pripadnošću određenom taksonu što ukazuje da su primećene korelacije slučajnost, i verovatno više govori o prostornoj distribuciji izabranih lokaliteta ovog taksona na Balkanu.

Tabela 4.1.1.7. Test linearne korelacije morfometrijskih karaktera i bioklimatskih komponenti

	Ld	Lš	Ld/š	Lrnd nš	Lžl	Lžn	Čd	Čš	Čd/š	Čgz	Čdz	Čž
ALT	0.2	0.0	0.2	0.1	-0.2	-0.3	0.0	0.0	0.0	-0.1	-0.1	0.0
BIO1	-0.4	-0.1	-0.2	-0.3	0.2	0.3	-0.1	-0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
BIO2	0.3	0.4	-0.2	0.3	-0.4	-0.4	0.7	0.4	0.6	0.7	0.7	0.1
BIO3	0.1	0.2	-0.2	0.1	-0.4	-0.3	0.6	0.4	0.5	0.5	0.5	0.1
BIO4	0.4	0.5	-0.1	0.5	-0.2	-0.4	0.6	0.3	0.6	0.6	0.7	0.0
BIO5	0.1	0.1	0.1	0.1	-0.4	-0.2	0.7	0.8	0.3	0.7	0.7	0.2
BIO6	-0.4	-0.3	-0.1	-0.4	0.3	0.4	-0.3	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	0.0
BIO7	0.4	0.4	-0.1	0.4	-0.4	-0.4	0.8	0.4	0.7	0.7	0.7	0.1
BIO8	0.0	0.3	-0.3	0.2	0.2	-0.1	0.1	0.0	0.0	0.2	0.2	0.1
BIO9	-0.4	-0.4	0.0	-0.5	0.2	0.4	-0.2	-0.2	0.0	-0.1	-0.2	-0.1
BIO10	-0.3	0.0	-0.2	-0.2	0.2	0.3	0.0	-0.1	0.1	0.1	0.1	0.0
BIO11	-0.4	-0.2	-0.1	-0.3	0.2	0.4	-0.1	-0.2	-0.1	-0.1	-0.1	0.0
BIO12	-0.1	-0.4	0.4	-0.2	-0.1	0.0	0.1	0.4	-0.3	0.1	0.1	0.1
BIO13	-0.3	-0.5	0.3	-0.4	-0.1	0.2	0.1	0.3	-0.1	0.0	0.0	0.1
BIO14	0.3	-0.1	0.4	0.2	0.0	-0.1	-0.1	0.2	-0.3	0.0	0.0	0.1
BIO15	-0.4	-0.4	-0.1	-0.4	0.0	0.3	0.1	0.1	0.1	0.0	-0.1	0.0
BIO16	-0.3	-0.5	0.3	-0.4	-0.1	0.1	0.1	0.3	-0.2	0.1	0.0	0.1
BIO17	0.2	-0.1	0.4	0.1	0.0	-0.1	-0.1	0.2	-0.3	0.0	0.0	0.1
BIO18	0.3	0.0	0.2	0.3	0.0	-0.3	0.1	0.3	-0.2	0.2	0.2	0.1
BIO19	-0.3	-0.4	0.2	-0.4	-0.2	0.2	0.2	0.2	0.0	0.1	0.0	0.0

Ld- dužina lista; *Lš*- širina lista; *Ld/š*-list odnos dužina/širina; *Lrnd**nš*- razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista; *Lžl*- broj žlezdanih trihoma na licu lista; *Lžn*- broj žlezdanih trihoma na naličju lista; *Čd*-dužina čašice; *Čš*- širina čašice; *Čd/š*- čašica odnos dužina/širina; *Čgz*- dužina gornjih zubaca čašice; *Čdz*- dužina donjih zubaca čašice; *Čž*- broj žlezdanih trihoma čašice; masnim slovima su date statistički značajne vrednosti veće od 0,7.

Mantelov i parcijalni Mantelov test su urađeni kako bi se sa većom sigurnošću potvrdile dobijene korelacije (Tabela 4.1.1.8). Mantelov test sa svim morfološkim karakterima i svim bioklimatskim parametrima je pokazao statistički značajno odsustvo korelacije između morfoloških podataka i bioklimatskih parametara, iako je nivo korelisanosti porastao kada je uklonjen geografski region. Takođe, nije pronađena korelacija ni između morfoloških parametara i geografskog regiona, što sve zajedno potvrđuje da je uočena korelacija na linearnom testu slučajna.

Tabela 4.1.1.8. Rezultati Mantelovog i parcijalnog Mantelovog testa

	Euklidske distance		Gowerove distance		Kvadrirane Mahalanobisove distance	
	R	P	R	P	R	P
M+BIO	0.37	0.02	0.42	0.01	0.29	0.11
M+BIO-Geo	0.43	0.02	0.49	0.00	0.33	0.03
M+Geo	-0.04	0.52	-0.05	0.52	-0.03	0.47

M-morfometrijski karakteri; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region;

4.1.2. Varijabilnost morfoloških karaktera *Satureja kitaibelii*

Univarijantne analize

Analiza varijanse (ANOVA) je pokazala da se sve tri populacije *S. kitaibelii* mogu diferencirati na osnovu 9 od 12 morfoloških karaktera. Za ovu analizu nisu korišćeni log-transformisani podaci (Tabela 4.1.2.1). Urađena je i *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$). Uočene diferencijacije nisu uvek jake, tj. mnoge od njih su na samoj granici statističke značajnosti. Poganovo se razlikuje od Đerdapa na 8 od 9 karaktera. Temšica od Đerdapa na 2, a od Poganova na 4. U odnosu na dužinu lista i oblik liske nema razlike, ali ima razlike kada je u pitanju širina lista, pa samim tim i odnos dužine i širine. Broj žlezdanih trihoma na čašici se ne razlikuje, ali se razlikuju ostali karakteri čašice.

Tabela 4.1.2.1. Varijabilnost morfoloških karaktera kod populacija vrste *S. kitaibelii*

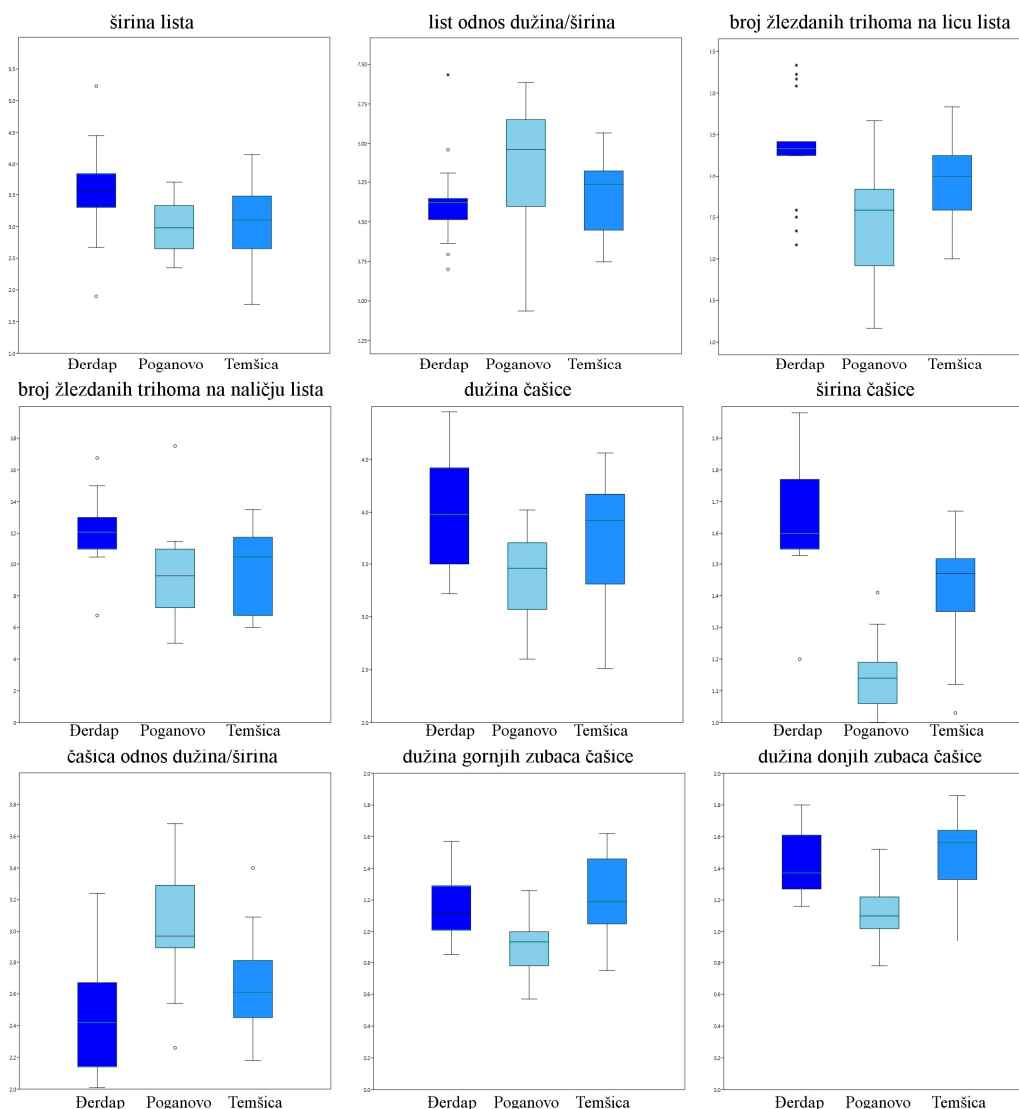
	<i>F</i>	<i>P</i>	Đerdap n=20	Poganovo n=15	Temšica n=15
Dužina lista	2.2	-	17.0 ± 3.3 ^a	17.6 ± 3.8 ^a	15.7 ± 2.9 ^a
Širina lista	3.9	**	3.6 ± 1.0 ^a	3.0 ± 0.5 ^b	3.1 ± 0.7 ^{ab}
List dužina/širina	3.5	**	4.9 ± 1.3 ^a	5.6 ± 1.3 ^b	5.1 ± 1.0 ^{ab}
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	2.7	-	5.9 ± 1.5 ^{ab}	6.3 ± 1.4 ^a	5.4 ± 1.0 ^b
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	9.5	***	9.9 ± 3.1 ^a	7.2 ± 3.3 ^b	8.7 ± 2.6 ^{ab}
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	6.8	***	12.1 ± 3.3	9.4 ± 3.7 ^a	9.5 ± 3.6 ^a
Prisustvo sitnih žlezda na listu ¹⁾			-	-	+
Dužina čašice	5.2	***	4.0 ± 0.6 ^a	3.4 ± 0.5 ^b	3.7 ± 0.8 ^{ab}
Širina čašice	45.1	***	1.6 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.4 ± 0.3
Časica dužina/širina	12.2	***	2.5 ± 0.4 ^a	3.0 ± 0.5 ^a	2.7 ± 0.4 ^a
Dužina gornjih zubaca čašice	8.3	***	1.1 ± 0.3 ^a	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.4 ^a
Dužina donjih zubaca čašice	13.5	***	1.4 ± 0.3 ^a	1.1 ± 0.2	1.5 ± 0.4 ^a
Broj žlezdanih trihoma čašice	3.1	*	4.2 ± 1.6 ^a	4.9 ± 1.9 ^a	5.1 ± 1.5 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Vrednosti su date kao srednja vrednost ± SD, *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$, * $P = 0,05$;

¹⁾ deskriptivni karakter koji nije korišćen u statističkim analizama

Slični rezultati se vide i na boks plotovima (Slika 4.1.2.1). Poganovo se izdvaja na karakterima odnos dužina i širina lista, broj žlezdanih trihoma na licu lista i karakterima vezanim za čašicu. Đerdap se od ostalih razlikuje na osnovu broja žlezdanih trihoma na naličju lista. Temšica se razlikuje po širini čašice. Najveća varijabilnost populacija je kod

širine čašice. Statistički značajne razlike su uočljive na svim karakteristikama osim na dužini lista i razdaljini između najšireg dela lista i vrha lista.



Slika 4.1.2.1. Varijabilnost morfoloških karaktera po populacijama *S. kitaibelii*

Test linearne regresije (Tabela 4.1.2.2) je pokazao da Pirsonov koeficijent korelacije ima umerenu korelaciju između karaktera širine lista sa dužinom lista i sa razdaljinom između najšireg dela i vrha lista, kao i parametara vezanih za čašicu, dužina je korelisana sa širinom, dužinom gornjih i donjih zubaca, dok je širina čašice korelisana sa odnosom širine i dužine čašice. Jaka korelacija je pokazana između dužine lista i razdaljine između najšireg dela lista i vrha lista, kao i donjih i gornjih zubaca čašice.

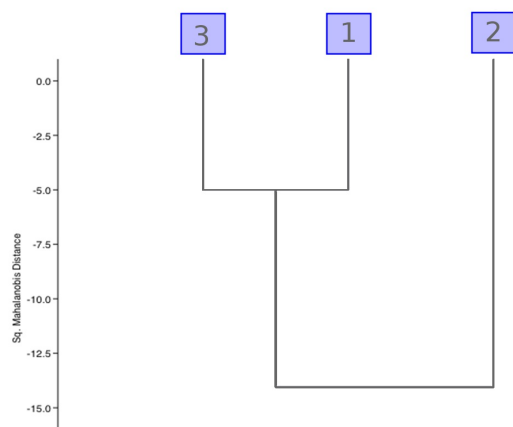
Tabela 4.1.2.2. Linearna korelacija između morfometrijskih parametara i P vrednost

	Ld	Lš	Ld/š	Lrndnš	Lžl	Lžn	Čd	Čš	Čd/š	Čgz	Čdz	Čž
Ld		0.00	0.99	0.00	0.05	0.00	0.26	0.40	0.90	0.05	0.04	0.40
Lš	0.68		0.00	0.00	0.36	0.19	0.66	0.36	0.10	0.75	0.59	0.21
Ld/š	0.00	-0.57		0.47	0.08	0.92	0.53	0.16	0.02	0.52	0.83	0.49
Lrndnš	0.83	0.66	-0.10		0.10	0.03	0.05	0.13	0.91	0.00	0.00	0.44
Lžl	-0.28	0.13	-0.25	-0.23		0.00	0.02	0.00	0.02	0.06	0.02	0.40
Lžn	-0.41	-0.19	-0.01	-0.30	0.53		0.02	0.00	0.17	0.21	0.06	0.59
Čd	-0.16	-0.06	0.09	-0.28	0.32	0.33		0.00	0.06	0.00	0.00	0.23
Čš	-0.12	0.13	-0.20	-0.22	0.53	0.44	0.60		0.00	0.00	0.00	0.11
Čd/š	-0.02	-0.24	0.34	-0.02	-0.32	-0.20	0.27	-0.61		0.19	0.38	0.41
Čgz	-0.28	-0.05	-0.09	-0.40	0.27	0.18	0.71	0.42	0.19		0.00	0.44
Čdz	-0.30	-0.08	-0.03	-0.44	0.32	0.27	0.79	0.54	0.13	0.92		0.99
Čž	-0.12	-0.18	-0.10	-0.11	-0.12	-0.08	-0.17	-0.23	0.12	0.11	0.00	

Ld - dužina lista; $Lš$ - širina lista; $Ld/š$ -list odnos dužina/širina; $Lrndnš$ - razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista; $Lžl$ - broj žlezdanih trihoma na licu lista; $Lžn$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $Čd$ -dužina čašice; $Čš$ - širina čašice; $Čd/š$ - čašica odnos dužina/širina; $Čgz$ - dužina gornjih zubaca čašice; $Čdz$ - dužina donjih zubaca čašice; $Čž$ - broj žlezdanih trihoma čašice; iznad dijagonale su date P vrednosti; ispod dijagonale su dati Pirsonovi koeficijenti korelacije R ; masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti gde je $-0,7 < R < 0,7$.

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na logaritmovanim nekorelisanim morfometrijskim karakterima (Slika 4.1.2.2) (kvadrirane Mahalanobisove distance) grupisao je Temšicu i Đerdap u istu kladu, a kao različitu je odvojilo Poganovo. Identični rezultati, uz nešto drugačije dužine klada, dobijeni su i sa Gowerovim i sa Euklidskim distancama.



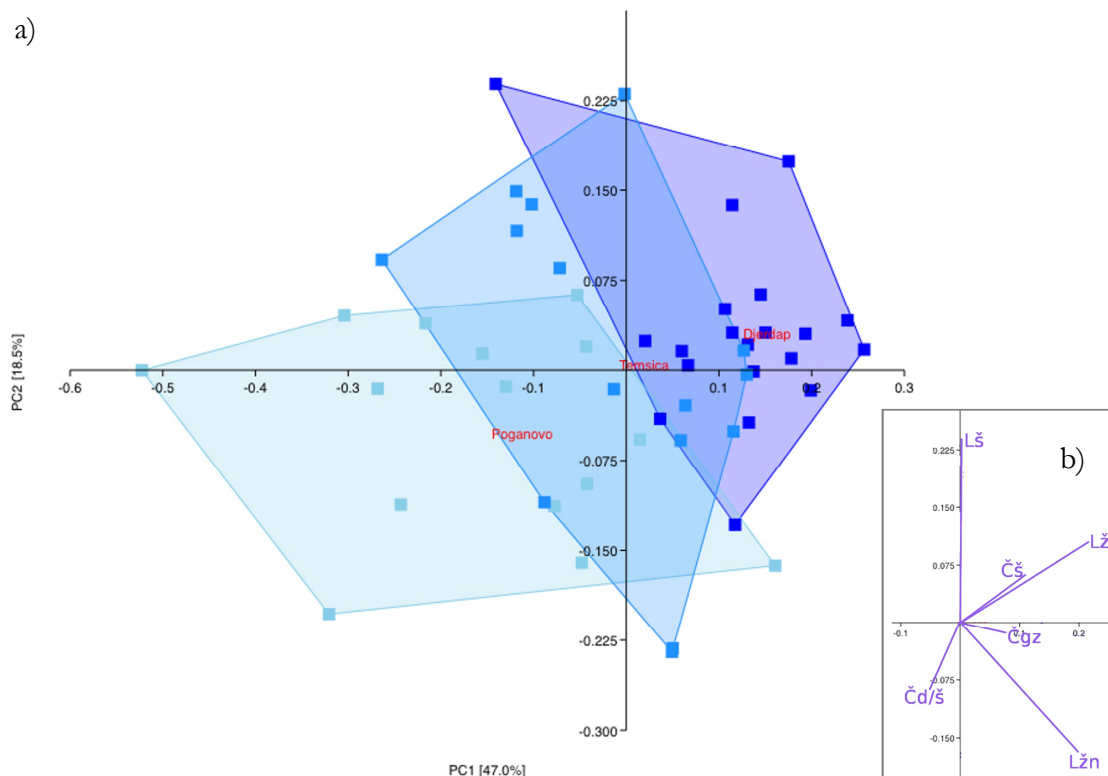
Slika 4.1.2.2. Hijerarhijska klaster analiza logaritmovanih nekorelisanih morfometrijskih podataka sa kvadriranim mahalanobisovim distancama. 1-Đerdap; 2-Poganovo; 3-Temšica

Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost proučavanih šest nekorelisanih moroloških karaktera kod 50 individua je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve tri ose ove analize objašnjavaju oko 81% ukupne varijabilnosti (Slika 4.1.2.3). Polovina karaktera je odbačena zbog visoke korelacije između sebe, preostalih 6 je korišćeno u statističkoj analizi. Pokazano je da su od njih šest 4 karaktera značajna za opisivanje ukupne varijabilnosti a tu su širina lista, broj žlezdanih trihoma i na licu i na naličju lista i širina čašice (Tabela 4.1.2.3). Na osnovu ovih 6 karaktera postoji preklapanje sve tri populacije *S. kitaibelii*, pri čemu je populacija Temšica između populacija Đerdapa i Poganova. Ova populacija je i geografski između druge dve.

Tabela 4.1.2.3. Udeo 6 morfometrijskih komponenti u prva tri vektora analize glavnih komponenti

	PC 1	PC 2	PC 3
Širina lista	0.01	0.73	-0.07
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	0.66	0.32	-0.05
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	0.61	-0.51	-0.30
Širina čašice	0.34	0.19	0.14
Časica dužina/širina	-0.16	-0.26	0.28
Dužina gornjih zubaca čašice	0.23	-0.04	0.90



Slika 4.1.2.3. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

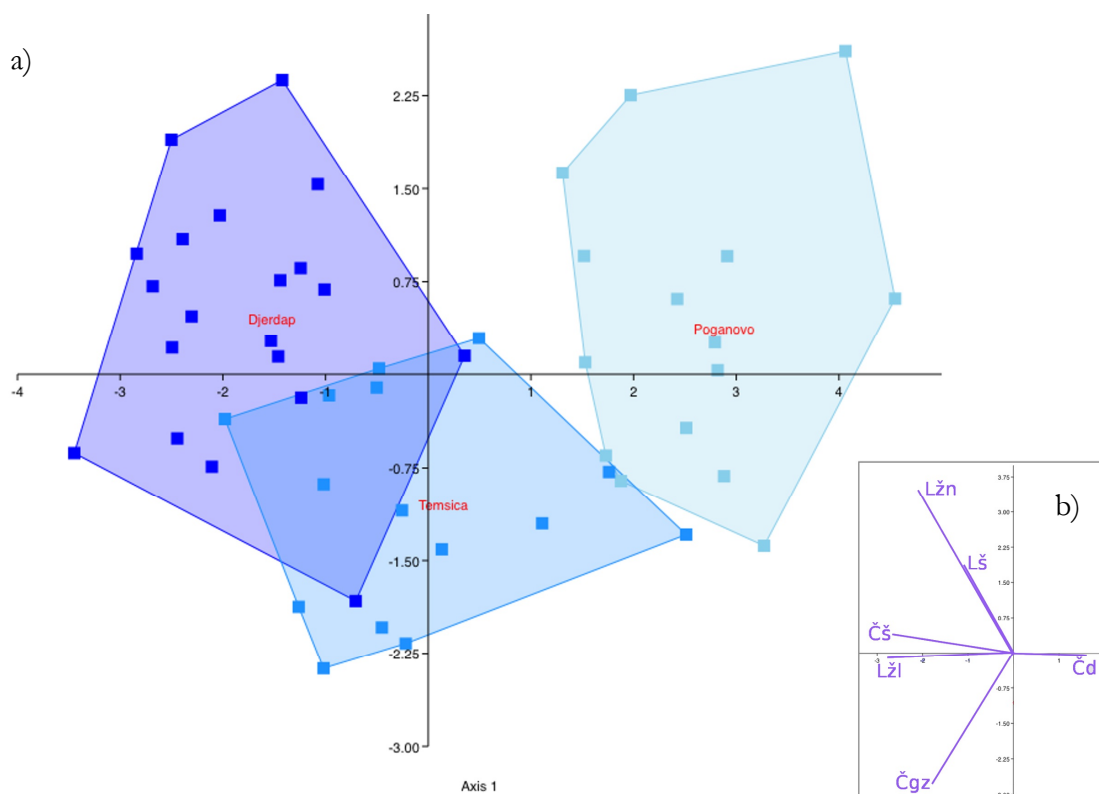
a) populacije *S. kitaibeli*; b) glavne komponente; ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; $L\check{s}$ - širina lista; $L\check{z}l$ - broj žlezdanih trihoma na licu lista; $L\check{z}n$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $\check{C}\check{s}$ - širina čašice; $\check{C}d/\check{s}$ - čašica odnos dužina/širina; $\check{C}gz$ - dužina gornjih zubaca čašice;

Diskriminantna analiza (DA)

Grupe u diskriminantnoj analizi su bile bazirane na populacijama (Slika 4.1.2.4). Prva diskriminantna funkcija objašnjava 87,7 %, dok druga objašnjava 12,3% ukupne varijabilnosti kada su u pitanju populacije. DA je odvojila Poganovo kao morfološki najrazličitiju populaciju, dok postoji preklapanje između Temšice i Đedrpa. Na osnovu matrice konfuzije, dve jedinke iz Đedrpa pripadaju populaciji Temšica, dok čak četiri jedinke (po dve) iz populacije Temšica pripadaju Đedrpu i Poganovu (Tabela 4.1.2.4). Ovo se podudara sa rezultatima analize glavnih komponenti, gde je Temšica smeštena na scatter plotu između Đedrpa i Poganova.

Tabela 4.1.2.4. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, populacije su grupe.

	Đerdap	Poganovo	Temšica	Σ
Đerdap	18	0	2	20
Poganovo	0	15	0	15
Temšica	2	2	11	15
Σ	20	17	13	50



Slika 4.1.2.4. Scatter plot diskriminantne analize

a) populacije *S. kitaibelii*; b) glavni vektori; ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; $L\check{s}$ - širina lista; Ld/\check{s} -list odnos dužina/širina; $L\check{z}l$ - broj žlezdanih trihoma na licu lista; $L\check{z}n$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $\check{C}d$ -dužina čašice; $\check{C}\check{s}$ - širina čašice; $\check{C}gz$ - dužina gornjih zubaca čašice;

Bioklimatski podaci

Rezultati jednostavne linearne regresione analize (Tabela 4.1.2.5) sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom su pokazali da je samo širina čašice u korelaciji sa bioklimatskim podacima, i to pozitivno korelisana sa vlažnošću (svi parametri vezani za padavine) i negativno/pozitivno korelisana sa većinom temperaturnih parametara. Dakle, što je veća količina padavina, to je čašica šira. Negativna korelacija je pronađena za nadmorsku visinu, srednju dnevnu i godišnju razliku između najviše i najniže temperature, kao i izotermalnost, dok je pozitivna za temperaturnu sezonalnost i srednju temperaturu najvlažnijeg kvartala. Drugi rečima, što je temperatura više varirala u toku dana i godine, i što je biljka rasla na većoj nadmorskoj visini, to je imala uže čašice. Takođe, pronađena je negativna korelacija za dužinu donjih zubaca i srednju temperaturu najhladnijeg meseca i pozitivna sa količinom padavina u najsuvljem mesecu, ali ovo je verovatno slučajnost, pošto nije pokazana korelacija ni sa jednim drugim bioklimatskim parametrom.

Mantelov i parcijalni Mantelov test su urađeni da bi se sa većom sigurnošću potvrdile dobijene korelacije (Tabela 4.1.2.6). Mantelov test sa svim morfološkim karakteristikama i svim bioklimatskim parametrima je pokazao da iako između morfoloških karaktera i bioklimatskih parametara postoji korelacija ona nije statistički značajna čak ni kada su uklonjeni geografski regioni. Takođe, nije pronađena korelacija ni između morfoloških parametara i geografskog regiona, osim kod euklidskih distanci ali ona nije bila statistički značajna ($R=0,89$, $P=0,17$). Zbog korišćenja svega tri populacije sa ograničenim brojem jedinki, ne možemo sa sigurnošću da uzmemo rezultate ovog testa. Povećanjem broja analiziranih populacija bi sigurno došlo do promene u R i P vrednostima.

Tabela 4.1.2.5. Test linearne korelacije morfometrijskih karaktera i bioklimatskih komponenti

	Ld	Lš	Ld/š	Lrndn š	Lžl	Lžn	Čd	Čš	Čd/š	Čgz	Čdz	Čž
ALT	-0.1	-0.4	0.2	0.0	-0.4	-0.5	-0.4	-0.7	0.5	-0.2	-0.2	0.3
BIO1	0.2	0.3	0.0	0.2	0.2	0.4	0.2	0.3	-0.2	-0.2	-0.1	-0.3
BIO2	0.1	-0.4	0.3	0.1	-0.5	-0.4	-0.4	-0.8	0.6	-0.4	-0.5	0.3
BIO3	0.1	-0.3	0.4	0.2	-0.5	-0.4	-0.4	-0.8	0.6	-0.4	-0.5	0.2
BIO4	0.0	0.4	-0.3	0.0	0.5	0.5	0.4	0.8	-0.5	0.3	0.4	-0.3
BIO5	0.2	0.3	0.0	0.2	0.2	0.4	0.2	0.3	-0.2	-0.2	-0.1	-0.3
BIO6	0.1	0.3	-0.2	0.1	0.4	0.4	0.3	0.5	-0.3	0.0	0.1	-0.3
BIO7	0.1	-0.3	0.4	0.2	-0.5	-0.4	-0.4	-0.8	0.6	-0.4	-0.5	0.3
BIO8	0.1	0.4	-0.2	0.1	0.4	0.5	0.3	0.7	-0.4	0.1	0.2	-0.3
BIO9	0.3	-0.1	0.3	0.3	-0.4	-0.1	-0.3	-0.5	0.4	-0.5	-0.6	0.0
BIO10	0.1	0.4	-0.2	0.1	0.4	0.4	0.3	0.6	-0.4	0.1	0.1	-0.3
BIO11	0.2	-0.2	0.3	0.3	-0.4	-0.2	-0.3	-0.6	0.5	-0.5	-0.6	0.1
BIO12	-0.1	0.4	-0.3	-0.1	0.5	0.4	0.4	0.8	-0.6	0.4	0.5	-0.3
BIO13	0.0	0.4	-0.3	0.0	0.5	0.5	0.4	0.8	-0.5	0.3	0.4	-0.3
BIO14	-0.2	0.3	-0.4	-0.2	0.5	0.4	0.4	0.8	-0.6	0.5	0.6	-0.2
BIO15	0.0	0.4	-0.3	0.0	0.5	0.5	0.4	0.8	-0.5	0.3	0.3	-0.3
BIO16	0.0	0.4	-0.3	-0.1	0.5	0.5	0.4	0.8	-0.5	0.3	0.4	-0.3
BIO17	-0.2	0.2	-0.3	-0.3	0.5	0.3	0.4	0.7	-0.5	0.5	0.6	-0.1
BIO18	0.0	0.4	-0.3	-0.1	0.5	0.5	0.4	0.8	-0.5	0.3	0.4	-0.3
BIO19	-0.2	0.3	-0.4	-0.2	0.5	0.4	0.4	0.8	-0.6	0.5	0.6	-0.2

Ld- dužina lista; *Lš*- širina lista; *Ld/š*-list odnos dužina/širina; *Lrndnš*- razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista; *Lžl*- broj žlezdanih trihoma na licu lista ; *Lžn*- broj žlezdanih trihoma na naličju lista; *Čd*-dužina čašice; *Čš*- širina čašice; *Čd/š*- čašica odnos dužina/širina; *Čgz*- dužina gornjih zubaca čašice; *Čdz*- dužina donjih zubaca čašice; *Čž*- broj žlezdanih trihoma čašice; masnim slovima su obeležene statistički značajne vrednosti veće od 0,6.

Tabela 4.1.2.6. Rezultati Mantelovog testa i parcijalnog Mantelovog testa

	Euklidske distance		Gowerove distance		Kvadrirane Mahalanobisove distance	
	R	P	R	P	R	P
M+BIO	1.00	0.17	0.86	0.34	0.84	0.33
M+BIO-Geo	1.00	0.16	1.00	0.34	1.00	0.34
M+Geo	0.89	0.17	0.46	0.51	0.43	0.50

M-morfometrijski karakteri; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region;

4.1.3. Varijabilnost morfoloških karaktera *Satureja subspicata*

Univarijantne analize

Analiza varijanse (ANOVA) je pokazala da se podvrste *S. subspicata* ssp. *liburnica* i *S. subspicata* ssp. *subspicata* mogu diferencirati na osnovu 9 od 12 morfoloških karaktera (Tabela 4.1.3.1). Nisu sve uočene diferencijacije statistički značajne. Podvrste se ne mogu razlikovati u odnosu na dužinu lista, razdaljine između najšireg dela lista i vrha lista i broja žlezdanih dlaka na naličju lista. Mnogo jače odvajanje između podvrsta je na osnovu karaktera čašice nego na osnovu karaktera lista.

Slični rezultati se vide i na boks plotovima (Slika 4.1.3.1). Podvrsta *liburnica* se izdvaja po nižim vrednostima na karakteristikama širina lista, broj žlezdanih trihoma na licu lista i na čašici. Podvrsta *subspicata* se izdvaja po nižim vrednostima na svim ostalim karakteristikama koji su statistički značajni.

ANOVA svih 10 populacija *S. subspicata* je utvrđena razliku u svim merenim karakteristikama. Urađena je i *post-hoc* analiza (Tukey's test, $p < 0,05$). Parametri čašice uglavnom odvajaju dve podvrste, međutim, nije bilo moguće uvek na osnovu njih odvojiti sve populaciju. S druge strane, parametri vezani za listove, uglavnom odvajaju pojedine populacije jedne od drugih i to bez jasnih šablona. Na primer, na osnovu oblika lista (odnos dužine i širine lista) izdvaja se Jadranovo, Crkvice i Nikšić u odnosu na sve ostale populacije. Na osnovu širine lista mogu se razlikovati Divača, Jadranovo, Zlobin, Orjen i Crkvice. S druge strane, razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista odvajaju Biokovo od populacija Divača i Zlobin, odnosno Crkvice od populacija Velebit, Đevrske i Biokovo. Broj žlezdanih trihoma na naličju lista odvajaju Divaču, Jadranovo, Biokovo i Nikšić od ostalih. Broj žlezdanih trihoma na licu lista, dužina čašice, dužina gornjih i donjih zubaca čašice, kao i broj žlezdanih trihoma čašice izdvaja Biokovo. Širina čašice ne odvajaju Divaču, Gacko i Nikšić kao što ni odnos dužine i širine čašice ne odvajaju Velebit, Đevrske, Orjen i Nikšić. Dakle, slično kao i kod vrste *S. montana* karakteri listova odvajaju populacije, dok karakteri cveta podvrste, s tim da ovde izgleda postoji ipak veća diferencijacija populacija u odnosu na vrstu *S. montana* gde se ne mogu uočiti bilo kakvi šabloni.

Tabela 4.1.3.1. Varijabilnost morfoloških karaktera kod podvrsta *S. subspicata*

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>liburnica</i> n=75	<i>subspicata</i> n=46
Dužina lista	2.8	-	14.1 ± 2.6	14.9 ± 2.5
Širina lista	19.6	***	2.9 ± 0.6	3.5 ± 0.8
List dužina/širina	11.7	***	4.9 ± 0.9	4.3 ± 0.8
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	1.1	-	5.2 ± 1.0	5.4 ± 1.1
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	24.1	***	3.5 ± 2.2	5.5 ± 2.0
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	2.4	-	4.8 ± 2.3	5.4 ± 1.9
Dužina čašice	79.3	***	6.0 ± 1.5	3.5 ± 1.5
Širina čašice	20.9	***	1.8 ± 0.5	1.3 ± 0.6
Časica dužina/širina	48.7	***	3.4 ± 0.6	2.7 ± 0.4
Dužina gornjih zubaca čašice	34.1	***	1.9 ± 0.6	1.2 ± 0.7
Dužina donjih zubaca čašice	30.2	***	2.8 ± 0.8	1.8 ± 1.2
Broj žlezdanih trihoma čašice	21.8	***	3.0 ± 1.2	4.2 ± 1.5

Vrednosti su date kao srednja vrednost ± SD , *** $P < 0,01$; - $P > 0,05$

Boks plotovi populacija svih statistički značajnih morfometrijskih karaktera (Slika 4.1.3.2) pokazuju slične rezultate kao i ANOVA. Populacija Crkvice se sa visokim vrednostima najviše izdvaja na karakterima širina lista, odnos dužine i širine lista, razdaljine između najšireg dela i vrha lista, a sa niskim vrednostima za veličinu čašice i dužinu zubaca čašice. Divača se izdvaja od svih ostalih po dužini lista kao i malim brojem žlezdanih trihoma na naličju lista, međutim, ovaj poslednji karakter kao i veliki broj žlezdanih trihoma čašice, veličina čašice (dužina i širina), dužina zubaca čašice je odvajaju od ostalih populacija podvrste *liburnica*. Biokovo se izdvaja po razdaljini između najšireg dela lista i vrha lista i velikoj varijabilnosti broja žlezdanih trihoma lica i naličja lista. Zlobin ima najveće vrednosti dužine i širine čašice, kao i dužine gornjih zubaca čašice. Jadranovo se odvajaju od ostalih po odnosu dužine i širine lista i ima najveći broj žlezdanih trihoma na naličju lista od svih populacija podvrste *liburnica*. Generalno podvrsta *liburnica* se razlikuju od podvrste *subspicata* na osnovu većih čašica dok je obrnut slučaj sa brojem žlezdanih trihoma čašice. Najveća varijabilnost je na karakterima dužina lista i broj žlezdanih trihoma lista.

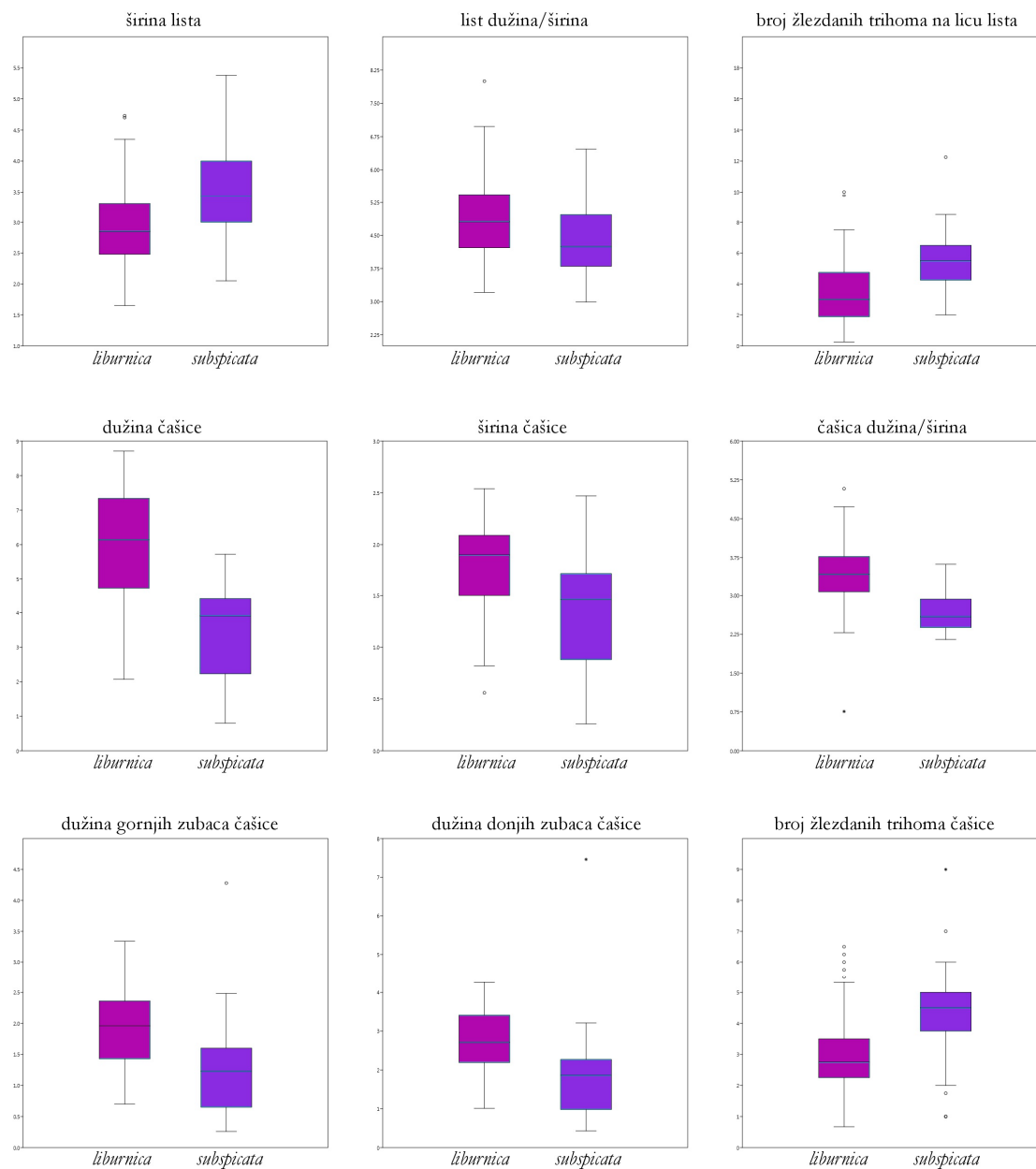
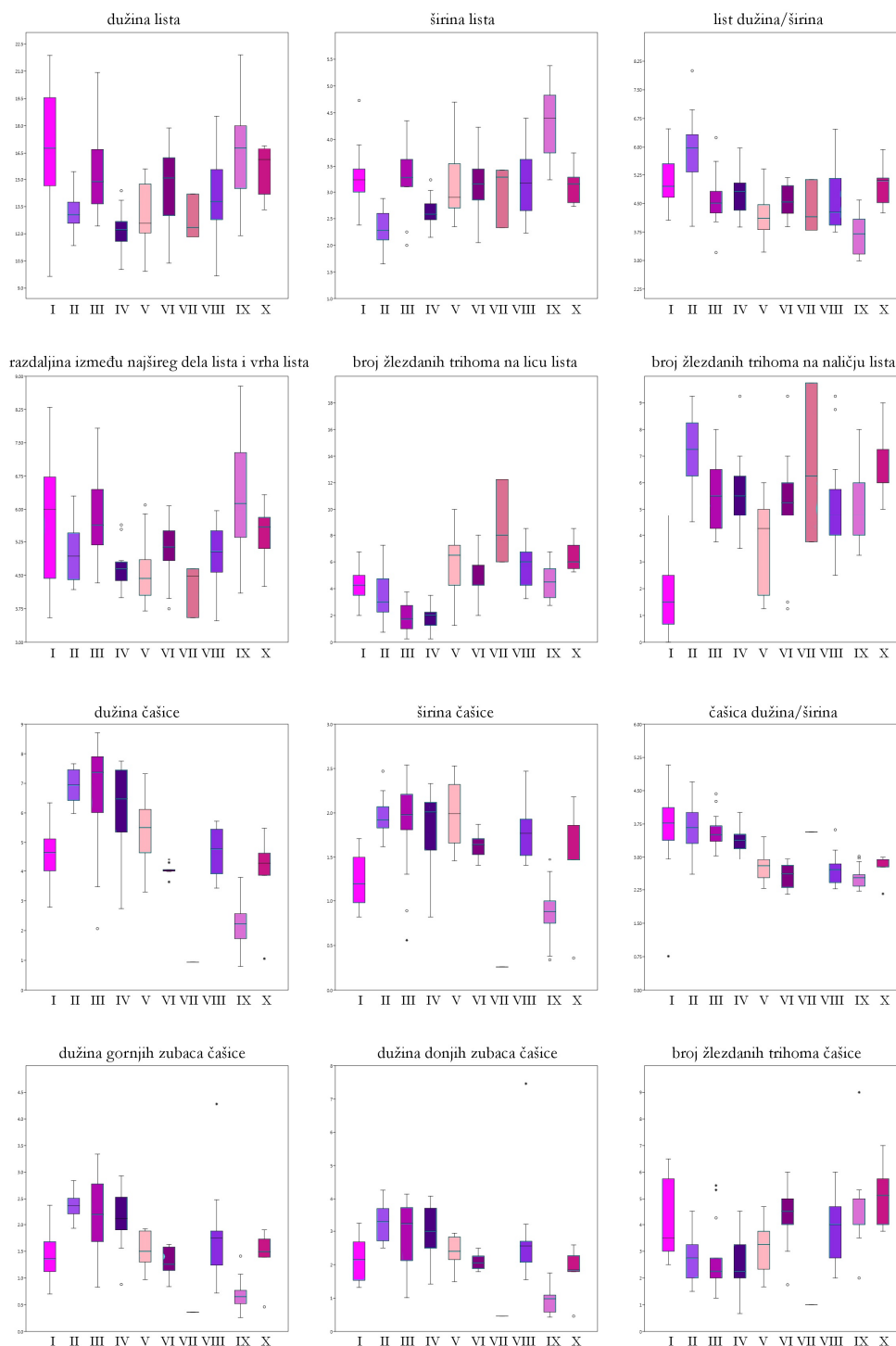
Slika 4.1.3.1. Varijabilnost morfoloških karaktera kod podvrsta *S. subspicata*

Tabela 4.1.3.2. Varijabilnost morfoloških karaktera kod populacija vrste *S. subspicata*

			ssp. <i>liburnica</i>	ssp. <i>liburnica</i>	ssp. <i>liburnica</i>	ssp. <i>liburnica</i>	ssp. <i>liburnica</i>	ssp. <i>subspicata</i>	ssp. <i>subspicata</i>	ssp. <i>subspicata</i>	ssp. <i>subspicata</i>	ssp. <i>subspicata</i>
	<i>F</i>	<i>P</i>	Divača n=15	Jadranovo n=15	Zlobin n=15	Velebit n=15	Đeverske n=15	Gacko n=10	Biokovo n=3	Orjen n=14	Crkvice n=14	Nikšić n=5
Dužina lista	6.0	***	16.5 ± 3.7 ^w	13.3 ± 1.6 ^w	15.3 ± 2.5 ^w	12.2 ± 1.4 ^w	13.0 ± 2.2 ^w	14.4 ± 3.5 ^w	12.8 ± 1.3 ^w	14.1 ± 2.5 ^w	16.1 ± 2.7 ^w	15.5 ± 1.7 ^w
Širina lista	12.1	***	3.3 ± 0.7^{ac}	2.3 ± 0.5^{bc}	3.3 ± 0.6^{ac}	2.6 ± 0.4 ^w	3.1 ± 0.9 ^w	3.2 ± 0.9 ^w	3.0 ± 0.6 ^w	3.2 ± 0.7^{ac}	4.3 ± 0.9	3.1 ± 0.5 ^w
List dužina/širina	9.7	***	5.1 ± 0.8 ^w	5.8 ± 1.4^{ab}	4.7 ± 1.1 ^w	4.7 ± 0.6 ^w	4.1 ± 1.1 ^w	4.5 ± 1.1 ^w	4.4 ± 0.7 ^w	4.6 ± 1.0 ^w	3.7 ± 1.0	5.0 ± 0.7^{ac}
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	5.7	***	5.9 ± 1.6 ^w	5.0 ± 0.9 ^w	5.7 ± 1.1 ^w	4.7 ± 0.9 ^w	4.6 ± 1.0 ^w	5.1 ± 1.2 ^w	4.2 ± 0.7 ^w	4.9 ± 0.9 ^w	6.3 ± 1.5 ^w	5.4 ± 1.1 ^w
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	14.8	***	4.4 ± 1.8 ^w	3.5 ± 2.5 ^w	1.9 ± 1.6 ^w	1.9 ± 1.5 ^w	6.1 ± 2.7 ^w	5.3 ± 2.3 ^w	8.8 ± 3.3^f	5.6 ± 2.4 ^w	4.5 ± 1.7 ^w	6.5 ± 1.5 ^w
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	12.0	***	1.9 ± 1.8^{ad}	7.2 ± 2.5^{bc}	5.5 ± 1.9 ^w	5.6 ± 2.0 ^w	3.8 ± 2.1 ^w	5.3 ± 2.8 ^w	6.6 ± 2.9^{bc}	5.2 ± 2.4 ^w	5.1 ± 1.7 ^w	6.7 ± 2.1^{bc}
Prisustvo sitnih žlezda na listu ¹⁾			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dužina čašice	25.6	***	4.6 ± 1.1 ^w	7.0 ± 0.9 ^w	6.6 ± 2.9 ^w	6.2 ± 2.1 ^w	5.4 ± 2.0 ^w	4.1 ± 0.4 ^w	0.9 ± 1.9^g	4.7 ± 1.9 ^w	2.2 ± 2.3 ^w	3.9 ± 2.4 ^w
Širina čašice	17.5	***	1.2 ± 0.3 ^w	1.9 ± 0.3^{bc}	1.9 ± 0.8^{bc}	1.9 ± 0.6^{bc}	2.0 ± 0.7^{bc}	1.6 ± 0.2 ^w	0.3 ± 0.5	1.8 ± 0.7^{bc}	0.9 ± 0.9^{ac}	1.5 ± 0.9 ^w
Časica dužina/širina	13.0	***	3.7 ± 1.2^{ab}	3.7 ± 0.7^{ab}	3.6 ± 0.5^{ab}	3.4 ± 0.5 ^w	2.8 ± 0.4 ^w	2.5 ± 0.5^{cd}	3.6 ± 0.0^{ab}	2.7 ± 0.6 ^w	2.5 ± 0.3^{cd}	2.7 ± 0.5 ^w
Dužina gornjih zubaca čašice	14.7	***	1.4 ± 0.6 ^w	2.3 ± 0.4 ^w	2.2 ± 1.1 ^w	2.2 ± 0.9 ^w	1.5 ± 0.7 ^w	1.3 ± 0.5 ^w	0.4 ± 0.7^h	1.7 ± 1.9 ^w	0.7 ± 0.7 ^w	1.4 ± 0.9 ^w
Dužina donjih zubaca čašice	12.5	***	2.2 ± 0.7 ^w	3.3 ± 0.8 ^w	2.9 ± 1.4 ^w	3.0 ± 1.1 ^w	2.4 ± 1.0 ^w	2.1 ± 0.4 ^w	0.5 ± 0.9^{ef}	2.7 ± 3.2 ^w	0.9 ± 1.0 ^w	1.8 ± 1.1 ^w
Broj žlezdanih trihoma čašice	8.2	***	4.0 ± 2.2 ^w	2.7 ± 1.2 ^w	2.8 ± 1.7 ^w	2.6 ± 1.5 ^w	3.1 ± 1.5 ^w	4.1 ± 1.9 ^w	1.0 ± 0.0^{bd}	3.8 ± 2.1 ^w	4.6 ± 1.6 ^w	5.3 ± 2.1 ^w

ANOVA i *post-hoc test* (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f,g,h,w} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$), pri čemu ^w grupu čine više sličnih odnosno različitih populacija; Vrednosti su date kao srednja vrednost ± SD; masnim slovima su označeni pripadnici jedne ili dve grupe prem *post-hoc* testu; *** $P < 0,01$

¹⁾deskriptivni karakter koji nije korišćen u statističkim analizama



Slika 4.1.3.2. Varijabilnost morfoloških karaktera po populacijama; I-Divača; II-Jadranovo; III-Zlobin; IV-Velebit; V-Đevrske; VI-Gacko; VII-Biokovo; VIII-Orjen; IX-Crkvice; X-Nikšić

Pirsonov koeficijent korelacije (Tabela 4.1.3.3) je pokazao umerenu korelaciju između karaktera širine lista sa dužinom lista, odnosom dužine i širine lista i razdaljinom između najšireg dela i vrha lista. Visoka korelacija je između dužine čašice i širine čašice, kao i

dužine i širine čašice i gornjih i donjih zubaca čašice. Takođe, dužina gornjih zubaca čašice je jako korelisana sa dužinom donjih zubaca.

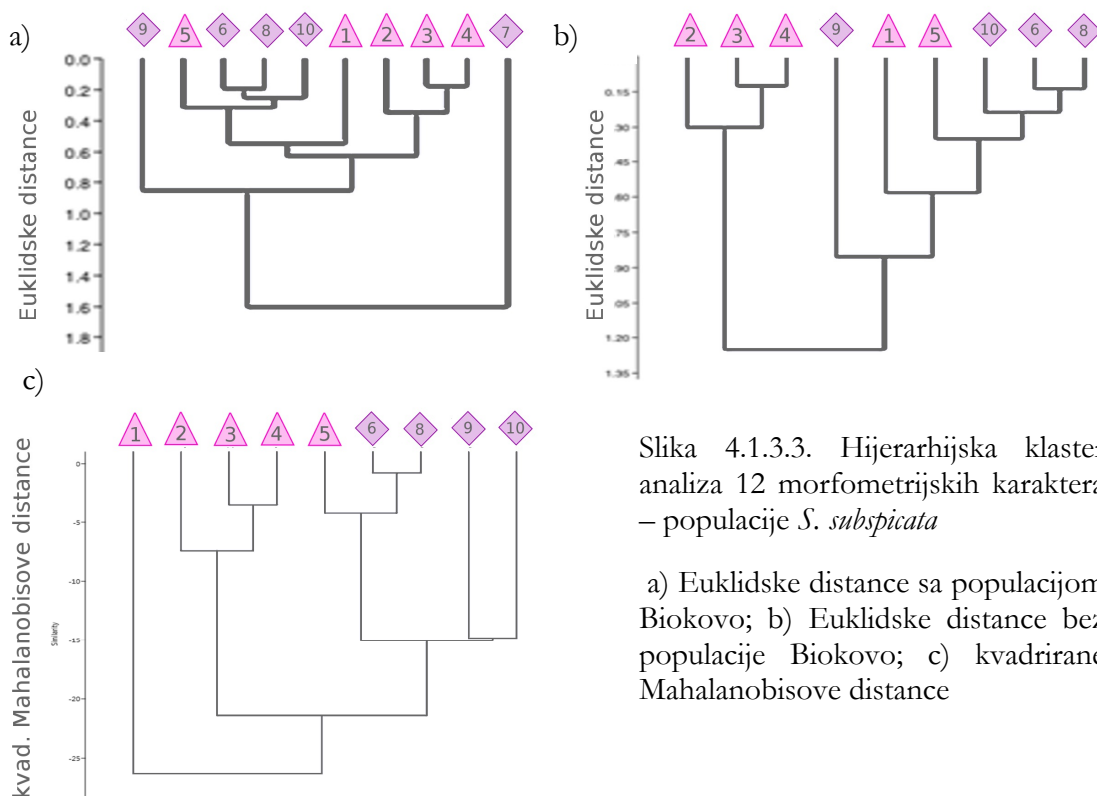
Tabela 4.1.3.3. Linearna korelacija između morfometrijskih parametara i P vrednost

	Ld	Lš	Ld/š	Lrnd nš	Lžl	Lžn	Čd	Čš	Čd/š	Čgz	Čdz	Čž
Ld		0.00	0.84	0.00	0.60	0.00	0.02	0.00	0.27	0.01	0.02	0.00
Lš	0.65		0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
Ld/š	0.02	-0.68		0.28	0.01	0.61	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.09
Lrndnš	0.82	0.61	-0.10		0.79	0.02	0.20	0.06	0.12	0.11	0.14	0.01
Lžl	0.05	0.24	-0.22	-0.02		0.62	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00
Lžn	-0.31	-0.25	0.05	-0.22	-0.05		0.75	0.51	0.91	0.38	0.70	0.26
Čd	-0.21	-0.38	0.35	-0.12	-0.32	0.03		0.00	0.01	0.00	0.00	0.08
Čš	-0.26	-0.31	0.20	-0.17	-0.18	0.06	0.93		0.61	0.00	0.00	0.72
Čd/š	0.10	-0.20	0.37	0.14	-0.35	0.01	0.25	-0.05		0.00	0.01	0.00
Čgz	-0.22	-0.36	0.33	-0.15	-0.35	0.08	0.91	0.82	0.27		0.00	0.08
Čdz	-0.22	-0.36	0.34	-0.14	-0.28	0.04	0.93	0.86	0.25	0.96		0.21
Čž	0.31	0.35	-0.16	0.24	0.26	-0.10	-0.16	-0.03	-0.29	-0.16	-0.12	

Ld - dužina lista; $Lš$ - širina lista; $Ld/š$ -list odnos dužina/širina; $Lrndnš$ - razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista; $Lžl$ - broj žlezdanih trihoma na licu lista; $Lžn$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $Čd$ -dužina čašice; $Čš$ - širina čašice; $Čd/š$ - čašica odnos dužina/širina; $Čgz$ - dužina gornjih zubaca čašice; $Čdz$ - dužina donjih zubaca čašice; $Čž$ - broj žlezdanih trihoma čašice; iznad dijagonale su date P vrednosti; ispod dijagonale su dati Pirsonovi koeficijenti korelacije R ; masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti gde je $-0,7 < R < 0,7$.

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziran na svim logaritmovanim morfometrijskim karakterima (Slika 4.1.3.3) (kvadrirane Mahalanobisove distance) grupisale su populacije u skladu sa pripadnošću podvrsti. Populacija Divača podvrste *S. subspicata* ssp. *liburnica* je dosta različita od svih, Jadranovo, Zlobin i Velebit čine drugu grupu, dok su ostale populacije u trećoj grupi. Populacija Đevrske se grupisala sa podvrstom *subspicata*. Populacija Biokovo, tipske podvrste, odskače od ostalih zbog veoma malog broja jedinki pa je isključena iz dalje analize. Euklidske distance daju sličan rezultat. Kada je i Bikovo u analizi ono je najrazličitije, bez te populacije dobija se da su Jadranovo, Zlobin i Velebit jedna grupa, a sve ostale druga grupa. Vidimo takođe, da se Divača i Crkvice najviše razlikuju od ostalih populacija iz svojih podvrsta.



Slika 4.1.3.3. Hijerarhijska klaster analiza 12 morfometrijskih karaktera – populacije *S. subspicata*

a) Euklidske distance sa populacijom Biokovo; b) Euklidske distance bez populacije Biokovo; c) kvadrirane Mahalanobisove distance

Analiza glavnih komponenti (PCA)

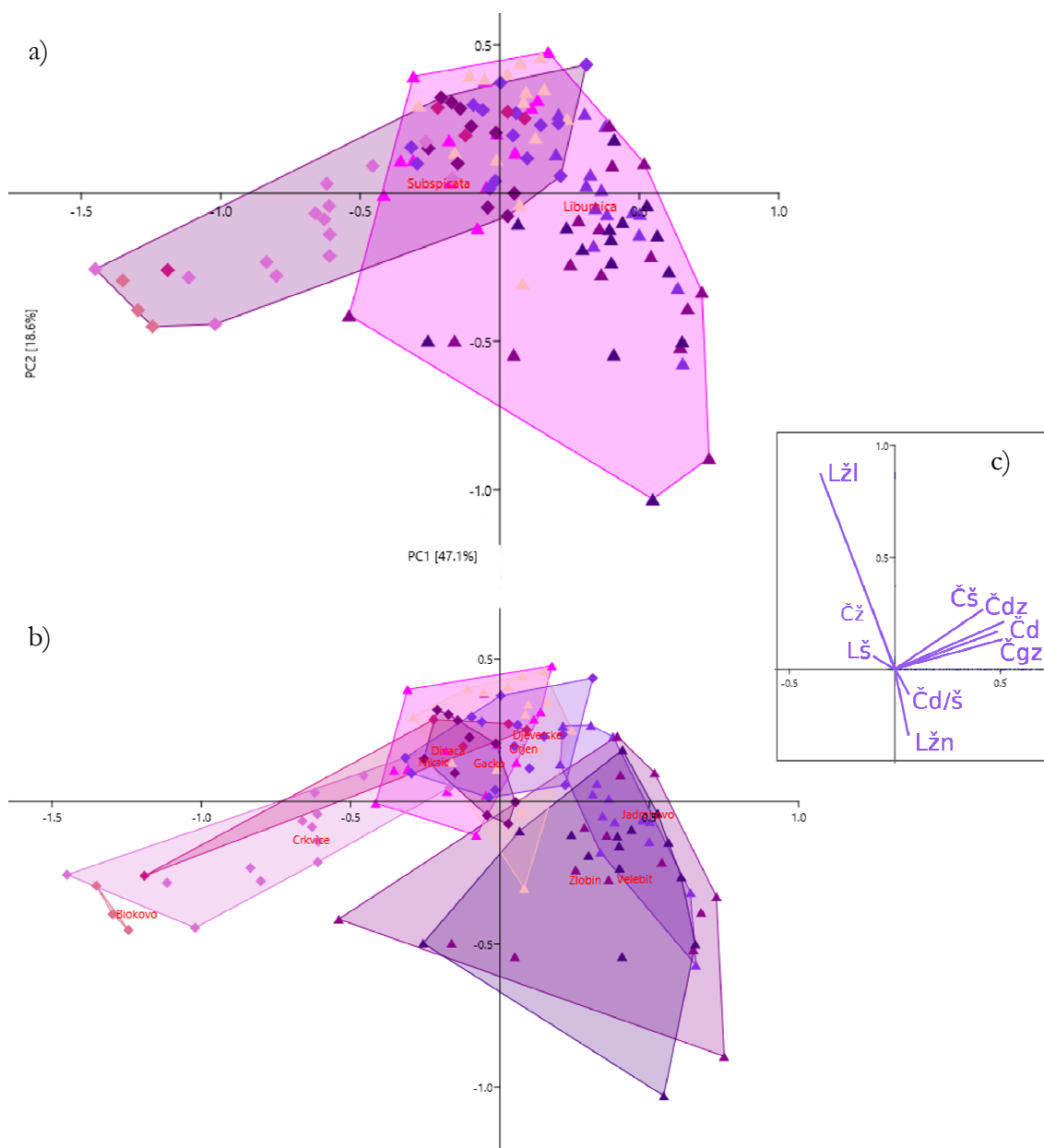
Varijabilnost proučavanih 12 morfoloških karaktera kod 121 individue je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 66% ukupne varijabilnosti (Slika 4.1.3.4). Na prvoj osi gotovo podjednako doprinose dužina i širina čašice, kao i dužina gornjih i donjih zubaca čašice, dakle osnovni karakteri

Tabela 4.1.3.4. Udeo 12 morfometrijskih karaktera u prva tri vektora analize glavnih komponenti

	PC 1	PC 2	PC 3
Dužina lista	-0.04	0.01	-0.10
Širina lista	-0.10	0.06	-0.09
List dužina/širina	0.07	-0.03	0.00
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	-0.03	0.00	-0.09
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	-0.34	0.83	0.31
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	0.06	-0.28	0.93
Dužina čašice	0.46	0.16	-0.01
Širina čašice	0.40	0.25	0.05
Časica dužina/širina	0.06	-0.11	-0.04
Dužina gornjih zubaca čašice	0.49	0.13	0.02
Dužina donjih zubaca čašice	0.49	0.20	0.00
Broj žlezdanih trihoma čašice	-0.10	0.26	-0.05

čašice, dok je na drugoj osi dominantan broj žlezdanih trihoma listova i čašice. PCA analiza nije uspela u potpunosti da odvoji dve podvrste, mada

se može uočiti diferencijacija u smislu načina na koji variraju ovi podaci. Kada pogledamo gde su smeštene populacije, vidimo da je za preklapanje *subspicata* i *liburnica* odgovorno dve populacije - Đevrske i Divača, međutim, Divača se odvaja po trećoj osi od obe podvrste.



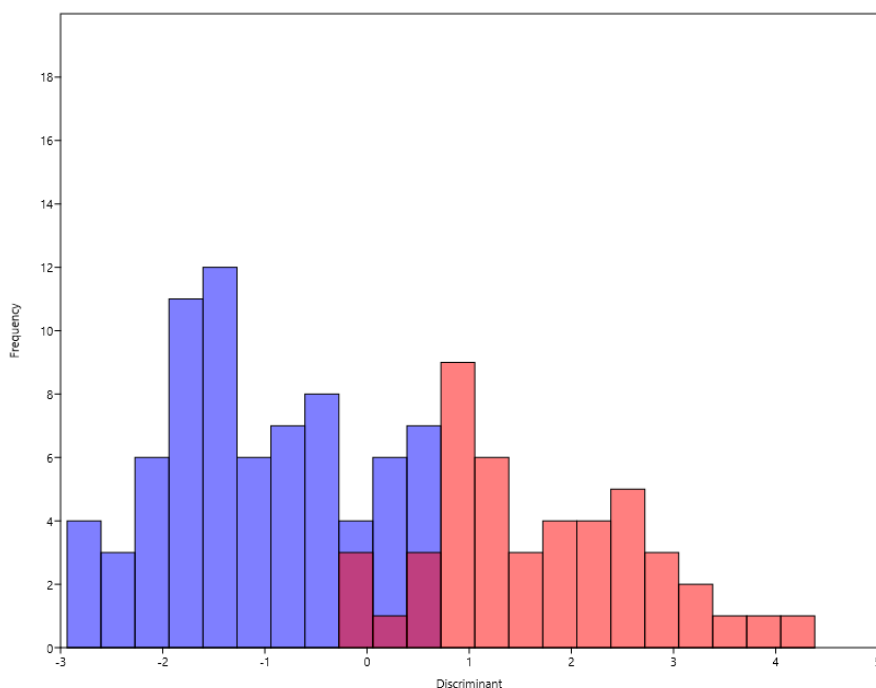
Slika 4.1.3.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

a) podvrste; b) populacije; c) eigenvektori; ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice; ◆ Nikšić; $L_{\text{žl}}$ - širina lista; $L_{\text{žl}}$ - broj žlezdanih trihoma na licu lista; $L_{\text{žn}}$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $\check{C}d$ -dužina čašice; $\check{C}\check{s}$ - širina čašice; $\check{C}d/\check{s}$ - čašica odnos dužina/širina; $\check{C}g\check{z}$ - dužina gornjih zubaca čašice; $\check{C}d\check{z}$ - dužina donjih zubaca čašice; $\check{C}\check{z}$ - broj žlezdanih trihoma čašice.

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava 87,7 %, dok druga objašnjava 12,3% ukupne varijabilnosti kada su u grupe populacije. DA gde su podvrste grupe isto nije bila u mogućnosti da na osnovu merenih morfoloških parametara odvoji dve podvrste (Slika 4.1.3.5). Postoji izvesno preklapanje između taksona iako ono nije naročito široko. Matrica konfuzije je smestila svega 10 od 74 jedinke podvrste *liburnica* u grupu *subspicata* a svega 4 od 46 jedinki *subspicata* u grupu *liburnica*. Rezolucija merenih karaktera nije dovoljno velika da bi se jasno odvojile podvrste.

DA, gde su populacije grupe, nije pokazala mnogo veću rezoluciju, međutim, bolje je odvojila određene populacije. Divača, Biokovo i Crkvice se odvajaju kao populacije gde su jedinke morfološki najrazličitije u odnosu na ostale populacije (Slika 4.1.3.6). Divača se odvaja zbog manjeg broja žlezdanih trihoma na naličju lista, Biokovo kao populacija koja ima najviše žlezdanih trihoma na licu lista, dok se Crkvice odvajaju od svih ostalih po manjim vrednostima svih karaktera. Ostale populacije se manje više preklapaju, gde se mogu odvojiti eventualno dva klastera: (1) podvrsta *liburnica* (Zlobin, Velebit, Jadranovo) i (2) podvrsta *subspicata* (Nikšić, Gacko i Orjen). Slične grupe je dala HCA kada su korišćene Euklidske distance sa i bez Biokova. Populacija Đevrske se poklapa sa oba ova klastera. Takođe, kada ova populacija nije korišćena u analizi, dobija se mnogo bolje odvajanje u oba slučaja. Tek minimalno preklapanje postoji na histogramu diskriminantne analize sa dve podvrste, a na *scatter plot*-u sa svim populacijama se dobija odvajanje populacija koje pripadaju dvema taksonima, uz još jače odvajanje Biokova i Divače. U matrici konfuzije vidimo da kod Đevrsaka nema toliko velike varijabilnosti da bi te jedinke morfološki prelazile u drugu grupu (Tabela 4.1.3.5). Jedinke iz populacije Orjen su raspoređene u nekoliko drugih populacija, pa čak i podvrsta (3 su smeštene u podvrstu *liburnica*, 3 u druge dve populacije *subspicata*).

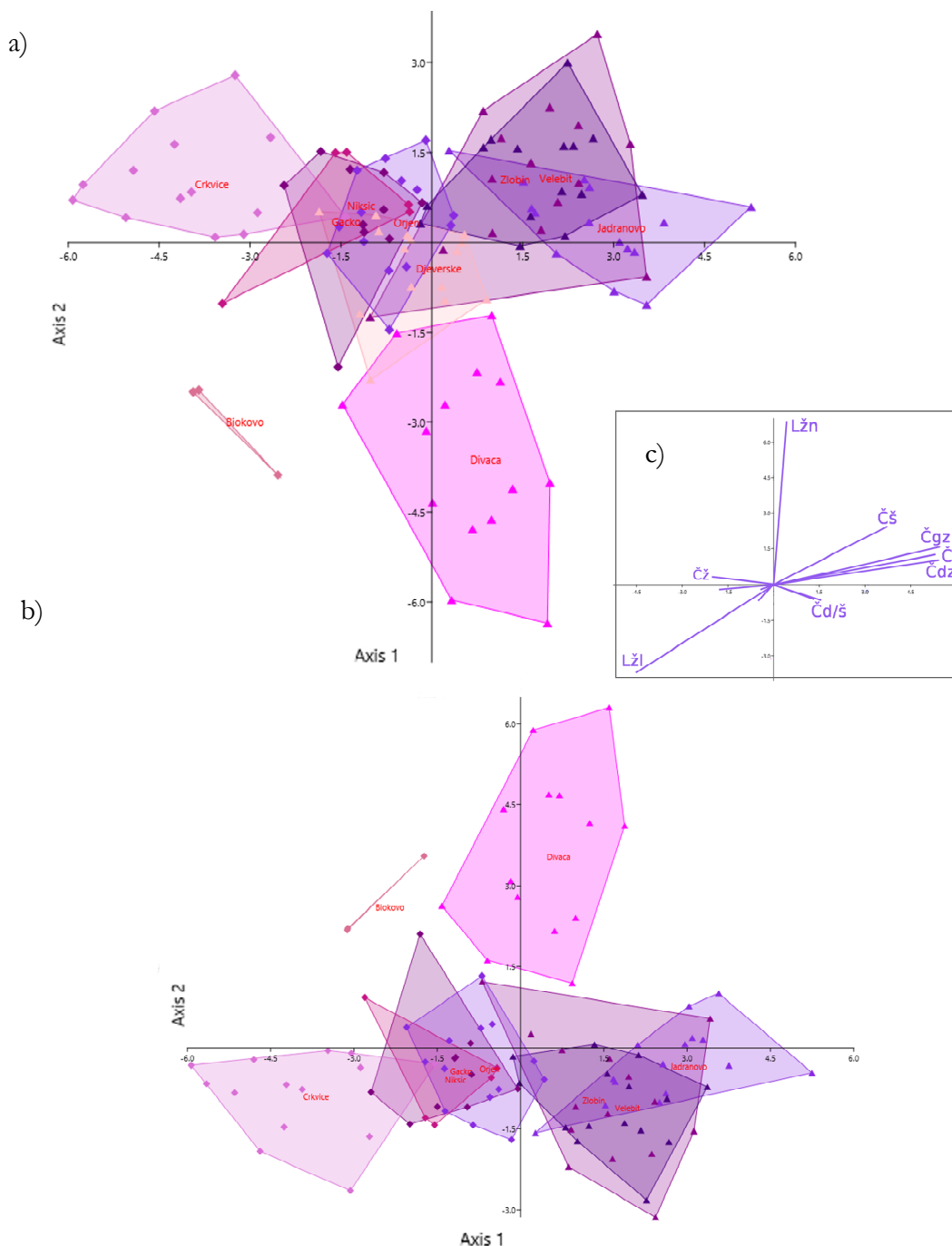


Slika 4.1.3.5. Histogram diskriminantne analize sa podvrstama *S. subspicata* jedinke iz populacija *S. subspicata* ssp. *liburnica*-plavi pikovi, populacije *S. subspicata* ssp. *subspicata*-crveni i ljubičastom bojom su jedinke iz populacije Đevrske koje se preklapaju između podvrsta.

Tabela 4.1.3.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, populacije su grupe.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Σ
I	12	1	0	0	0	0	0	0	0	1	14
II	0	13	1	0	0	0	0	0	0	1	15
III	0	1	12	1	0	0	0	0	0	1	15
IV	0	0	1	13	1	0	0	0	0	0	15
V	0	0	0	0	14	0	0	1	0	0	15
VI	0	0	0	0	1	6	0	2	0	1	10
VII	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3
VIII	0	0	0	0	3	2	0	8	0	1	14
IX	0	0	0	0	0	1	0	0	12	1	14
X	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4	5
Σ	12	15	14	14	19	9	3	12	12	10	120

I-Divača; *II*-Jadranovo; *III*-Zlobin; *IV*-Velebit; *V*-Đevrske; *VI*-Gacko; *VII*-Biokovo; *VIII*-Orjen; *IX*-Crkvice; *X*-Nikšić



Slika 4.1.3.6. Scatter plot diskriminantne analize svih populacija

a) sve populacije; b) bez populacije Đevrske; c) glavne komponente

▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice; ◆ Nikšić; $Lžl$ - broj žlezdanih trihoma na licu lista ; $Lžn$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista ; $Čd$ -dužina čašice; $Čš$ - širina čašice; $Čd/š$ - čašica odnos dužina/širina; $Čgz$ - dužina gornjih zubaca čašice; $Čdž$ - dužina donjih zubaca čašice; $Čž$ - broj žlezdanih trihoma čašice

Bioklimatski podaci

Rezultati jednostavne linearne regresione analize (Tabela 4.1.3.6) sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom su pokazali da ne postoji korelacija sa bioklimatskim podacima. Jedine korelacije koje su pronađene su one između broja žlezdanih trihoma na naličju lista s jedne i izotermalnosti (pozitivna) i količinom padavina u najsuvljem mesecu tj. kvartalu (negativna), s druge strane. Ovo može da bude slučajno, a može i biti selektivni uticaj sredine ka jedinkama koje imaju veći broj žlezda na površini listova.

Tabela 4.1.3.6. Test linearne korelacije morfometrijskih karaktera i bioklimatskih komponenti

	Ld	Ls	Ld/š	Lrnd nš	Lžl	Lžn	Čd	Čš	Čd/š	Čgz	Čdz	Čž
ALT	0.2	0.5	-0.4	0.2	0.0	0.1	-0.5	-0.4	-0.4	-0.4	-0.4	0.4
BIO1	-0.2	-0.3	0.3	-0.2	0.2	-0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	-0.3
BIO2	-0.2	0.0	-0.1	-0.3	0.6	-0.1	-0.1	0.2	-0.4	-0.2	-0.1	0.1
BIO3	-0.2	0.1	-0.3	-0.2	0.6	-0.1	-0.3	0.0	-0.5	-0.3	-0.2	0.2
BIO4	-0.2	-0.3	0.2	-0.2	-0.3	-0.1	0.5	0.3	0.4	0.3	0.3	-0.3
BIO5	-0.2	-0.4	0.3	-0.3	0.2	-0.1	0.4	0.4	0.2	0.3	0.3	-0.3
BIO6	-0.1	-0.3	0.3	-0.2	0.2	-0.1	0.4	0.3	0.3	0.2	0.3	-0.3
BIO7	-0.3	-0.3	0.0	-0.4	0.2	-0.1	0.3	0.4	-0.1	0.1	0.2	-0.2
BIO8	0.0	-0.2	0.3	-0.1	0.2	-0.3	0.2	0.1	0.3	0.1	0.2	-0.1
BIO9	-0.4	-0.2	0.0	-0.4	0.3	0.3	0.0	0.2	-0.3	0.0	0.0	0.0
BIO10	-0.2	-0.4	0.3	-0.2	0.2	-0.1	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	-0.3
BIO11	-0.1	-0.3	0.3	-0.2	0.2	-0.1	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	-0.2
BIO12	0.1	-0.1	0.3	0.2	-0.5	0.3	0.2	0.0	0.4	0.3	0.2	-0.1
BIO13	-0.1	-0.2	0.2	0.0	-0.3	0.5	0.2	0.1	0.2	0.3	0.3	-0.1
BIO14	0.1	-0.2	0.3	0.2	-0.6	0.1	0.4	0.0	0.5	0.4	0.3	-0.2
BIO15	-0.3	-0.1	-0.1	-0.3	0.4	0.1	0.0	0.2	-0.3	0.0	0.0	-0.1
BIO16	-0.2	-0.3	0.3	-0.1	-0.5	0.5	0.4	0.2	0.3	0.5	0.4	-0.3
BIO17	0.1	-0.2	0.3	0.2	-0.6	0.2	0.3	0.0	0.5	0.4	0.3	-0.2
BIO18	0.2	-0.1	0.3	0.2	-0.6	0.0	0.3	-0.1	0.6	0.3	0.2	-0.2
BIO19	-0.1	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.5	-0.1	-0.1	-0.2	0.1	0.0	0.1

Ld- dužina lista; *Ls*- širina lista; *Ld/š*-list odnos dužina/širina; *Lrndnš*- razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista; *Lžl*- broj žlezdanih trihoma na licu lista; *Lžn*- broj žlezdanih trihoma na naličju lista; *Čd*-dužina čašice; *Čš*- širina čašice; *Čd/š*- čašica odnos dužina/širina; *Čgz*- dužina gornjih zubaca čašice; *Čdz*- dužina donjih zubaca čašice; *Čž*- broj žlezdanih trihoma čašice; masnim slovima su obeležene statistički značajne vrednosti veće od 0,6.

Mantelov i parcijalni Mantelov test pokazali su da nema korelacije između odabranih morfometrijskih karaktera i bioklimatskih parametara, čak i nakon uklanjanja regiona (Tabela 4.1.3.7). Mantelov i parcijalni Mantelov test su pokazali slabu korelaciju između morfometrijskih karaktera i geografskog regiona kada se koriste kvadrirane Mahalanobisove distance za morfometrijske podatke. Ovo je sve verovatno posledica jako različitih populacija Divača i Crkvice, koje odudaraju od osnovnih populacija. Kada se u testu ne koriste populacije Divača, Biokovo i Crkvice dobijamo visoku statistički značajnu korelaciju sa geografskim regionom ($R > 0,7$; $P < 0,05$).

Tabela 4.1.3.7. Rezultati Mantelovog i parcijalnog Mantelovog testa

	Euklidske distance		Gowerove distance		Kvadrirane Mahalanobisove distance	
	R	P	R	P	R	P
M+BIO	0.04	0.36	0.04	0.36	0.09	0.31
M+BIO-Geo	-0.04	0.50	-0.04	0.49	-0.01	0.44
M+Geo	0.40	0.01	0.38	0.01	0.54	0.00
M+Geo*	0.70	0.04	0.70	0.02	0.73	0.02

M-morfometrijski karakteri; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region; masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti

* Kad se uklone Divača, Crkvice i Biokovo

4.1.4. Diferencijacija simpatrijskih populacija na osnovu morfoloških karaktera

Univarijantne analize

Analiza varijanse (ANOVA) sa svim simpatrijskim populacijama je pokazala odvajanje na osnovu svih morfoloških karaktera, što nije slučaj kada se pogledaju rezultati *post-hoc* testa (Tabela 4.1.4.1). Recimo, za karakter razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista, ANOVA je pokazala statistički značajno razlikovanje, međutim, konzervativniji Tukey's test ($P < 0,05$) nije pokazao statistički značajnu razliku između bilo kojeg para simpatrijskih taksona na proučavanim lokalitetima. Na prvom karakteru, dužina lista, takođe, ne postoji diferencijacija simpatrijskih taksona. Kada su karakteri lista u pitanju, postoji razlika između *S. subspicata* i *S. montana* sa lokaliteta Divača (odnos dužine i širine lista i broj žlezdanih dlaka na listu), zatim na lokalitetima Jadranovo i Zlobin se ove dve vrste odvajaju broj žlezdanih trihoma na listu. Kada su u pitanju karakteri čašice, na lokalitetu Divača je diferencijacija u odnosu na karaktere dužina čašice, odnos dužine i širine čašice, dužine gornjih i donjih zubaca čašice. Na lokalitetu Gacko samo jedan od ispitivanih karaktera je uspeo da odvoji dve vrste i to broj žlezdanih trihoma na naličju lista. Na lokalitetu Jadranovo i Zlobin dva taksona se odvajaju na osnovu svih ispitivanih karaktera čašice.

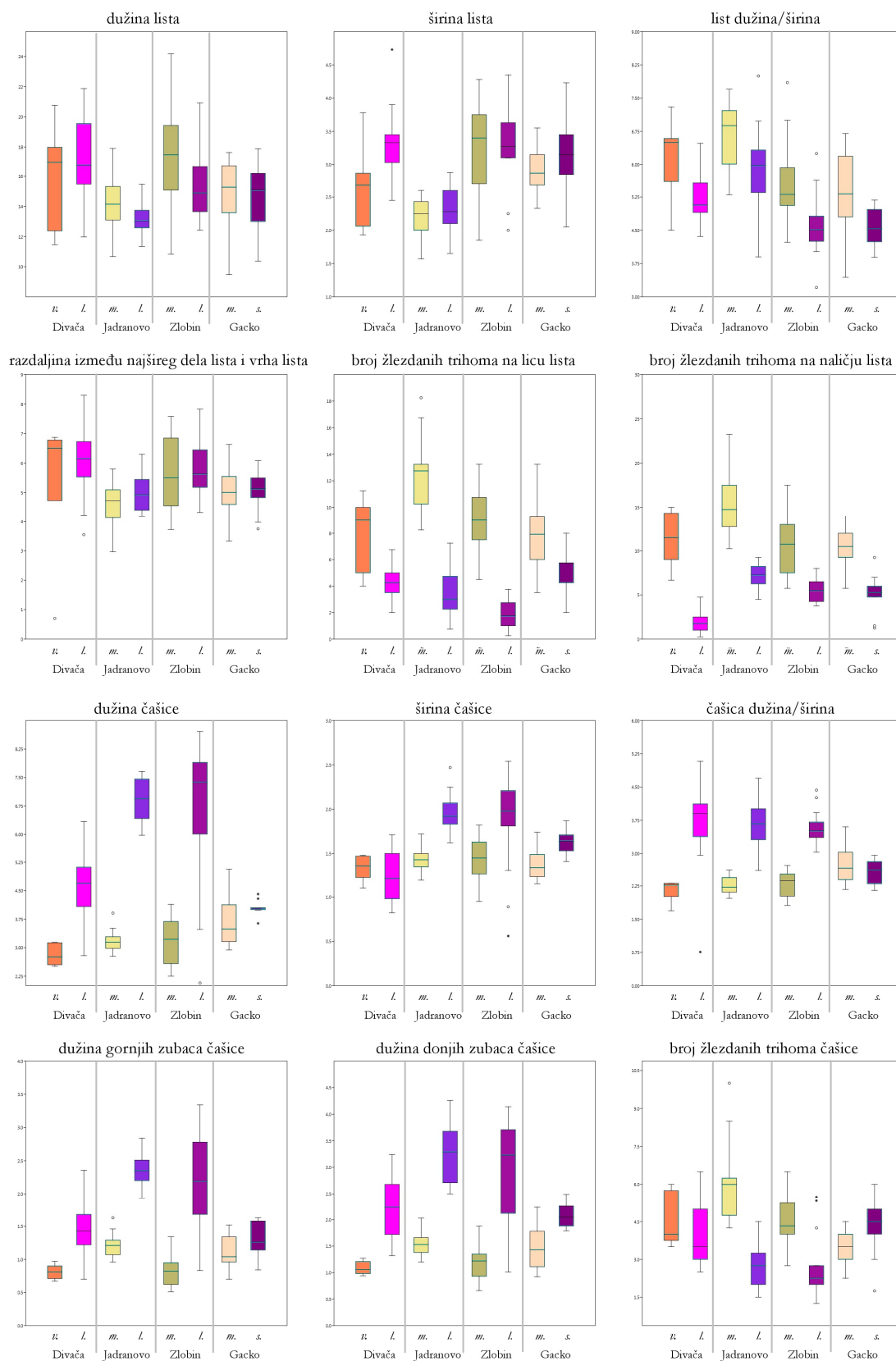
Boks plotovi (Slika 4.1.4.1) pokazuju slične rezultate. Karakteri dužina, širina lista i razdaljina između najšireg dela i vrha lista ne pokazuju diferencijaciju između simpatrijskih vrsta i lokaliteta, dok ostali karakteri lista i čašice pokazuju odvajanje skoro svih simpatrijskih vrsta. Simpatrijske vrste na lokalitetu Gacko pokazuju odvajanje na 5 od 12 merenih karaktera i to uglavnom vezanih za broj žlezdanih trihoma lista i većine karaktera čašice (širina čašice, dužina donjih zubaca i broj žlezdanih trihoma čašice).

Tabela 4.1.4.1. Varijabilnost morfoloških karaktera kod simpatrijskih populacija *S. montana* i *S. subspicata*

	<i>F</i>	<i>P</i>	Divača		Jadranovo		Zlobin		Gacko	
			<i>S. montana</i> n=7	<i>S. subspicata</i> n=15	<i>S. montana</i> n=13	<i>S. subspicata</i> n=15	<i>S. montana</i> n=15	<i>S. subspicata</i> n=15	<i>S. montana</i> n=15	<i>S. subspicata</i> n=10
Dužina lista	3.5	***	16.0 ± 3.3 ^a	16.5 ± 3.7 ^a	14.3 ± 2.5 ^a	13.3 ± 1.6 ^a	17.2 ± 3.7 ^a	15.3 ± 2.5 ^a	15 ± 2.6 ^a	14.4 ± 3.5 ^a
Širina lista	9.2	***	2.7 ± 0.7 ^a	3.3 ± 0.7 ^a	2.2 ± 0.4 ^a	2.3 ± 0.5 ^a	3.2 ± 0.8 ^a	3.3 ± 0.6 ^a	2.9 ± 0.4 ^a	3.2 ± 0.9 ^a
List dužina/širina	9.9	***	6.1 ± 1.0	5.1 ± 0.8	6.6 ± 1.0 ^a	5.8 ± 1.4 ^a	5.6 ± 1.0 ^a	4.7 ± 1.1 ^a	5.3 ± 1.0 ^a	4.5 ± 1.1 ^a
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	2.3	**	5.2 ± 2.3 ^a	5.9 ± 1.6 ^a	4.6 ± 1.0 ^a	5.0 ± 0.9 ^a	5.6 ± 1.4 ^a	5.7 ± 1.1 ^a	5.0 ± 1.2 ^a	5.1 ± 1.2 ^a
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	34.2	***	8.3 ± 3.1	4.4 ± 1.8	12.5 ± 3.5	3.5 ± 2.5	8.7 ± 3.1	1.9 ± 1.6	8.0 ± 4.6 ^a	5.3 ± 2.3 ^a
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	40.4	***	11.4 ± 3.3	1.9 ± 1.8	15.5 ± 4.7	7.2 ± 2.5	10.8 ± 4.1	5.5 ± 1.9	10.4 ± 3.3	5.3 ± 2.8
Prisustvo sitnih žlezda na listu ¹⁾			-	+	-	+	+	+	+	+
Dužina čašice	40.5	***	2.8 ± 0.4	4.6 ± 1.1	3.2 ± 0.4	7.0 ± 0.9	3.2 ± 1.0	6.6 ± 2.9	3.7 ± 1.0 ^a	4.1 ± 0.4 ^a
Širina čašice	12.2	***	1.3 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.3 ^a	1.4 ± 0.2	1.9 ± 0.3	1.4 ± 0.5	1.9 ± 0.8	1.4 ± 0.3 ^a	1.6 ± 0.2 ^a
Časica dužina/širina	23.3	***	2.1 ± 0.3	3.7 ± 1.2	2.3 ± 0.3	3.7 ± 0.7	2.3 ± 0.4	3.6 ± 0.5	2.7 ± 0.5 ^a	2.5 ± 0.5 ^a
Dužina gornjih zubaca čašice	28.6	***	0.8 ± 0.2	1.4 ± 0.6	1.2 ± 0.3	2.3 ± 0.4	0.8 ± 0.4	2.2 ± 1.1	1.1 ± 0.4 ^a	1.3 ± 0.5 ^a
Dužina donjih zubaca čašice	29.7	***	1.1 ± 0.2	2.2 ± 0.7	1.5 ± 0.3	3.3 ± 0.8	1.2 ± 0.4	2.9 ± 1.4	1.5 ± 0.5 ^a	2.1 ± 0.4 ^a
Broj žlezdanih trihoma čašice	12.3	***	4.5 ± 1.6 ^a	4.0 ± 2.2 ^a	6.1 ± 2.4	2.7 ± 1.2	4.6 ± 1.6	2.8 ± 1.7	3.4 ± 1.1 ^a	4.1 ± 1.9 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^a grupa je prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Vrednosti su date kao srednja vrednost ± SD, *** $P < 0,01$, ** $0,01 < P < 0,05$

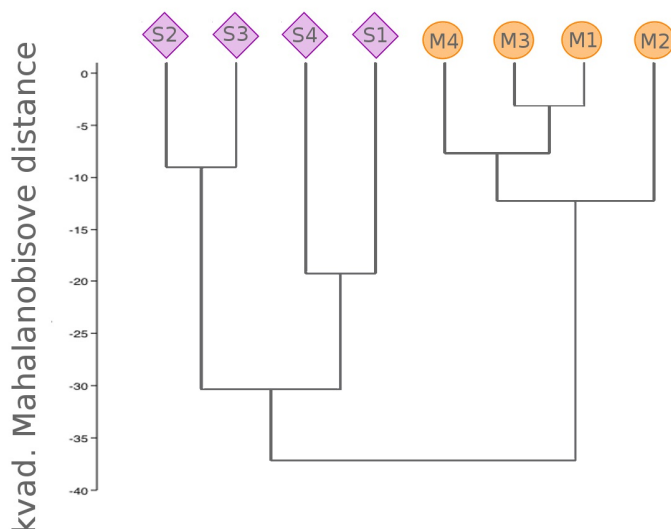
¹⁾ deskriptivni karakter koji nije korišćen u statističkim analizama



Slika 4.1.4.1. Varijabilnost morfoloških karaktera kod simpatrijskih populacija

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

HCA analiza sa kvadriranim Mahalanobisovim distancama je grupisala populacije vrste *S. montana* u jednu grupu, a populacije *S. subspicata* u drugu grupu (Slika 4.1.4.2). Iako ne postoji konzistentnost grupisanja populacija po podvrstama, zbog jako velike morfološke varijabilnosti, jasno se vidi da se morfološki veoma jasno odvajaju vrste koje žive simpatrijski u dve odvojene klade.



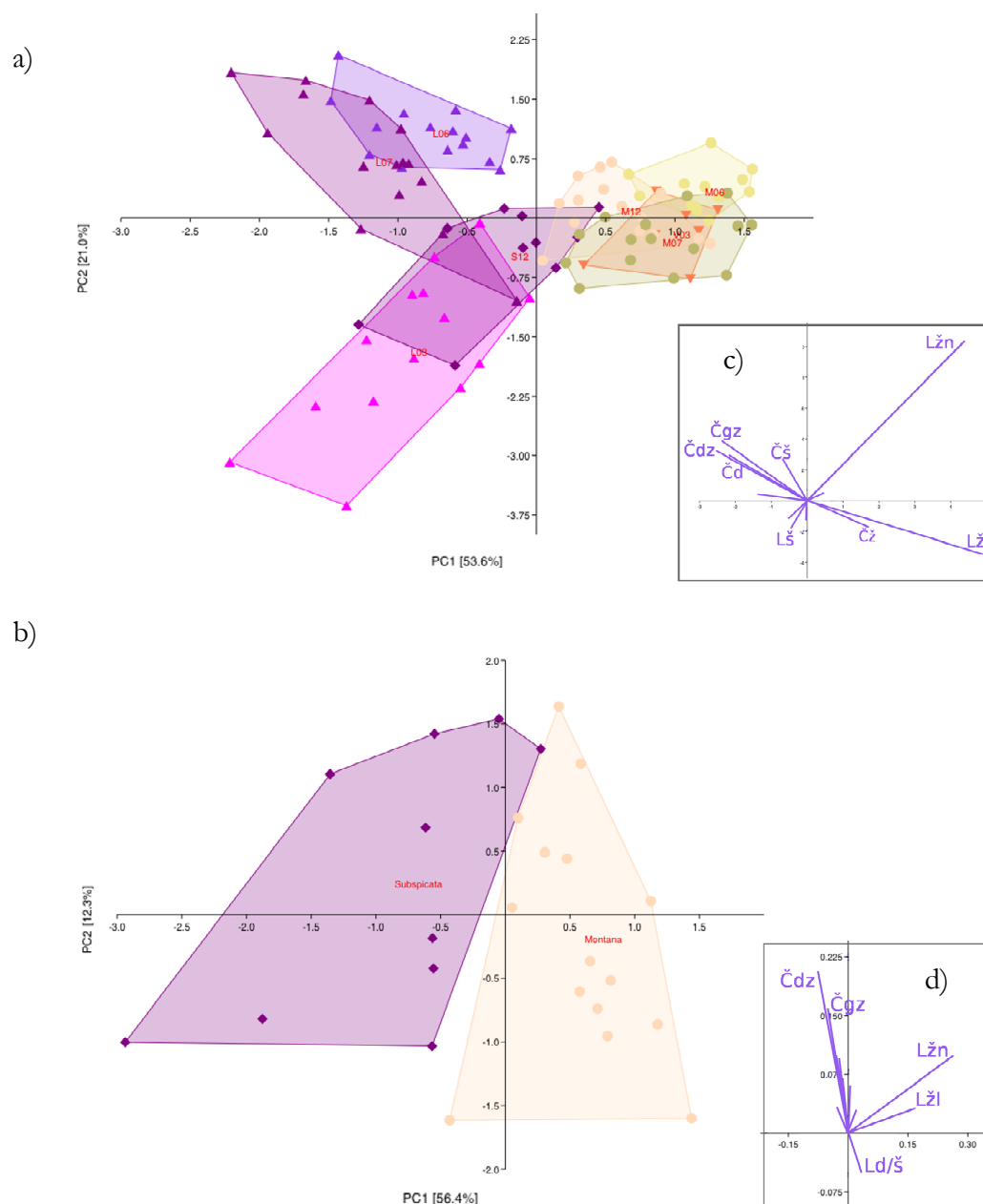
Slika 4.1.4.2. Hijerarhijska klaster analiza 12 morfometrijskih karaktera sa kvadriranim Mahalanobisovim distancama; S- *S. subspicata*; M- *S. montana*; Divača (S1) i (M1); Jadranovo (S1) i (M2); Zlobin (S3) i (M3); Gacko (S4) i (M4)

Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost proučavanih 12 moroloških karaktera kod 8 simpatrijskih populacija je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 74 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.1.4.3). PCA analiza je pronašla da je relativno veći broj komponenti značajan za diferencijaciju jedinki koje žive u simpatrijskim populacijama. Vidimo da, iako postoji preklapanje između nekih podvrsta, npr. *subspicata* i *liburnica*, to je preklapanje između njihovih populacija, a da se populacije različitih vrsta uvek razdvajaju. Primer je i *S. montana* (M06) iz Jadranova koja je na potpuno suprotnom kraju od *S. subspicata* (L06) sa istog lokaliteta. Slična je situacija i sa populacijama iz Gackog, *S. subspicata* (S12) se jasno razdvaja od *S. montana* (M12) uz neznatno preklapanje. Zapravo, kada se uporedi svaki par populacija, razlikuju se čak i populacije sa lokaliteta Gacko.

Tabela 4.1.4.2. Udeo 12 morfometrijskih komponenti u prva tri vektora analize glavnih komponenti

	PC 1	PC 2	PC 3
Dužina lista	0.00	-0.10	-0.01
Širina lista	-0.06	-0.14	0.00
List dužina/širina	0.06	0.04	0.00
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	-0.06	-0.09	0.08
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	0.61	-0.27	0.70
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	0.53	0.79	-0.17
Dužina čašice	-0.26	0.23	0.27
Širina čašice	-0.08	0.21	0.23
Časica dužina/širina	-0.17	0.03	0.00
Dužina gornjih zubaca čašice	-0.29	0.30	0.42
Dužina donjih zubaca čašice	-0.31	0.25	0.41
Broj žlezdanih trihoma čašice	0.21	-0.13	0.04

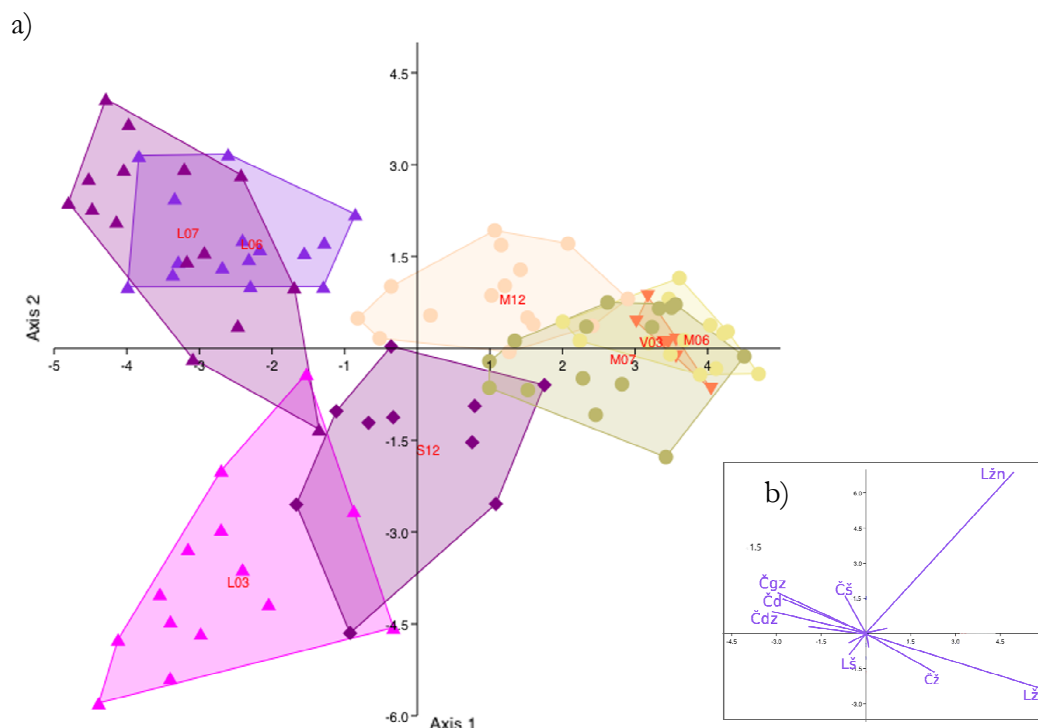


Slika 4.1.4.3. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

a) populacije; b) vrste; c) glavne komponente populacije; d) glavne komponente vrste
 Divača: ▲ *subspicata* i ▼ *montana*; Jadranovo: ▲ *subspicata* i ● *montana*; Zlobin: ▲ *subspicata* i ● *montana*; Gacko: ◆ *subspicata* i ● *montana*; Lš- širina lista; Ld/š-list odnos dužina/širina; Lžl- broj žlezdanih trihoma na licu lista; Lžn- broj žlezdanih trihoma na naličju lista; Čd- dužina čašice; Čš- širina čašice; Čd/š- čašica odnos dužina/širina; Čgž- dužina gornjih zubaca čašice; Čdž- dužina donjih zubaca čašice; Čž- broj žlezdanih trihoma čašice

Diskriminantna analiza (DA)

DA je samo potvrdila rezultate HCA i PCA. Jedinke se grupišu u odnosu na pripadnost taksonu a ne u odnosu na populacije. Kada pogledamo matricu konfuzije, ima iskakanja individua iz svojih zacrtanih morfoloških grupa ali to nikada nije uskakanje u drugu vrstu (vrste su *subspicata* i *montana*), već eventualno u drugu podvrstu iste vrste (Slika 4.1.4.4). To nije neočekivano, s obzirom na izuzetno veliku morfološku varijabilnost koja je uočena u svim prethodnim analizama.



Slika 4.1.4.4. Scatter plot diskriminatne analize svih simpatrijskih populacija

a) populacije; b) glavne komponente

Divača: ▲ *subspicata* i ▼ *montana*; Jadranovo: ▲ *subspicata* i ● *montana*; Zlobin: ▲ *subspicata* i ● *montana*; Gacko: ◆ *subspicata* i ● *montana*; $L_{\text{š}}$ – širina lista; $L_{\text{žl}}$ – broj žlezdanih trihoma na licu lista; $L_{\text{žn}}$ – broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $\bar{C}d$ – dužina čašice; $\bar{C}_{\text{š}}$ – širina čašice; $\bar{C}d/\bar{C}_{\text{š}}$ – čašica odnos dužina/širina; $\bar{C}g_{\text{ž}}$ – dužina gornjih zubaca čašice; $\bar{C}d_{\text{ž}}$ – dužina donjih zubaca čašice; $\bar{C}_{\text{ž}}$ – broj žlezdanih trihoma čašice.

4.1.5. Diferencijacija proučavanih taksona pomoću morfoloških karaktera

Univarijantne analize

ANOVA je pokazala da se sva tri taksona međusobno razlikuju na osnovu svih izmerenih morfoloških karaktera. Međutim, *post-hoc* analiza je bila informativnija (Tukey's test, $P < 0,05$) koja je ukazala na karaktere značajne za diferenciranje parova vrsta (Tabela 4.1.5.1). Tako se vrsta *S. subspicata* razlikuje od vrste *S. montana* na osnovu oblika lista (odnos dužine i širine) i na osnovu broja žlezdanih dlaka listova. Kada su u pitanju karakteri čašice, *S. subspicata* se razlikuje od preostala dva taksona na osnovu svih karaktera čašice. Vrsta *S. kitaibelii* se razlikuje od *S. montana* i *S. subspicata* na osnovu dužine i širine lista, kao i broju žlezda na naličju lista, plus dužina lista i razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista (oblik) je odvajala samo od vrste *S. subspicata*. Jedini karakter koji je diferencirao sva tri taksona je broj žlezdanih trihom na naličju lista.

Slični rezultati se vide i na boks plotovima (Slika 4.1.5.1). Mali broj žlezdanih trihoma na licu i naličju lista najviše odvajala vrstu *subspicata* od ostalih. Takođe i veće vrednosti za sve karaktere čašice sem za broj žlezdanih trihoma odvajala vrstu *S. subspicata* od ostalih, dok su vrste *S. montana* i *S. kitaibelii* jako slične po svim karakteristikama.

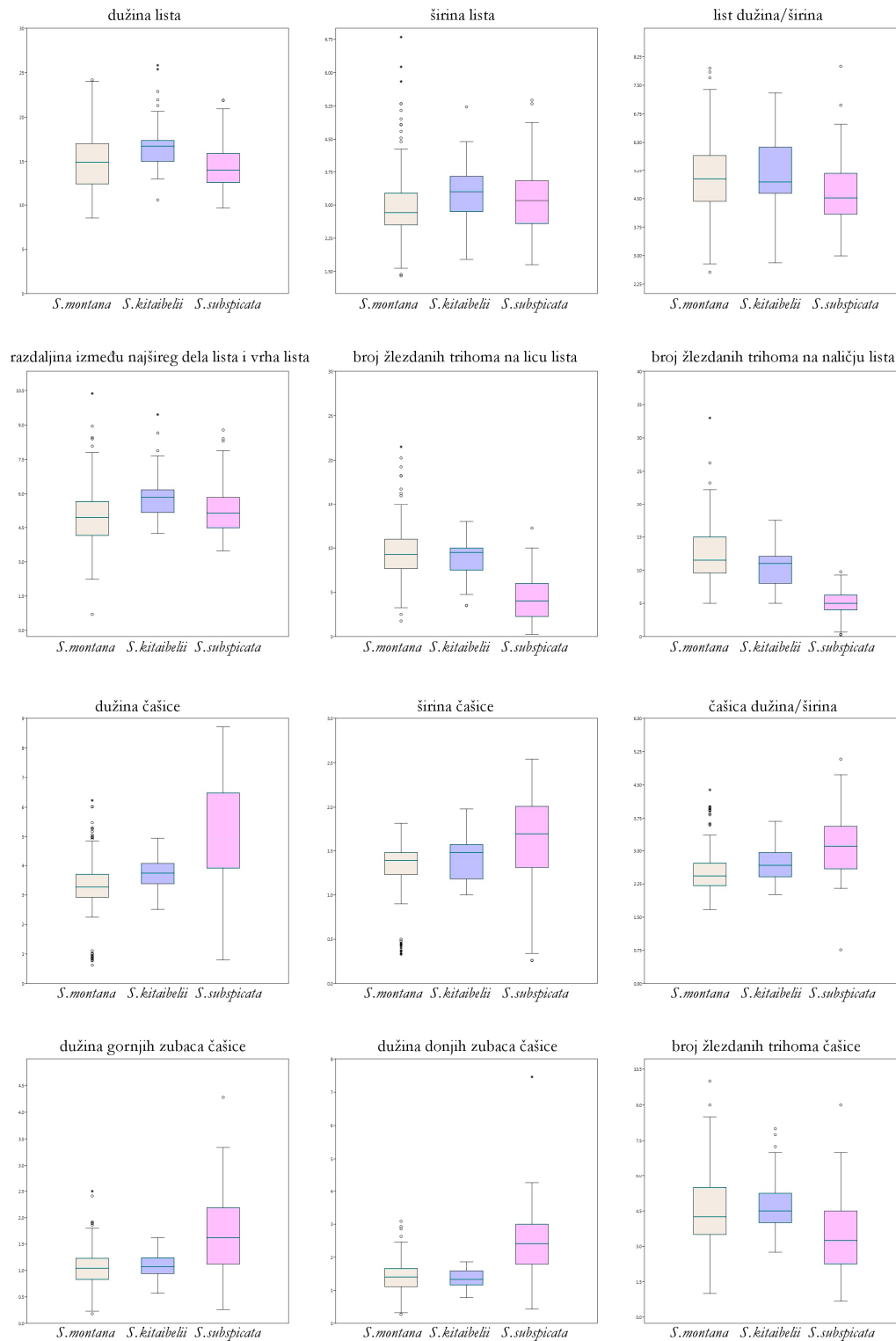
Analiza varijanse (ANOVA) je razlikovala sve taksone na osnovu svih merenih morfometrijskih karakteristika (Tabela 4.1.5.2). Konzervativniji *post-hoc* test uglavnom nije našao statistički značajnu razliku između parova taksona na osnovu morfometrijskih karaktera lista. Odnos dužine i širine lista je bio informativan za razlikovanje podvrsta *S. subspicata* od podvrsta *S. montana* (ssp. *montana*, ssp. *pisidica*) i vrste *S. kitaibelii*. Oblik lista (tj. razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista) je odvojila vrstu *S. kitaibelii* od podvrsta *S. montana* ssp. *montana* i ssp. *variegata*. S druge strane, broj žlezda na listu se pokazao kao informativni karakter za razlikovanje obe podvrste *S. subspicata* od svih ostalih taksona. Karakteri čašice su bili najinformativniji. Posebno se *S. subspicata* ssp. *liburnica*, na većini tih karaktera (dužina čašice, odnos dužine i širine čašice, dužina zubaca čašice i broj žlezdanih trihoma čašice) razlikuje od svih ostalih taksona. Na osnovu dužine donjih zubaca podvrste *S. montana* ssp. *montana* i *S. subspicata* ssp. *subspicata* se razlikuju od ostalih. Dakle, karakteri čašice su se potvrdili kao informativni za razlikovanje podvrsta, dok su karakteri lista uglavnom neinformativni. Ove rezultate pokazuju i ostali testovi.

Boks plot (Slika 4.1.5.2) pokazuje slične rezultate kao i ANOVA. Broj žlezdanih trihoma na licu i naličju lista odvajaju podvrste vrste *S. subspicata*. Generalno, obe podvrste *S. subspicata* se odvajaju od ostalih po većim vrednostima za karaktere čašice, a posebno podvrsta *liburnica*, sem karaktera broj žlezdanih trihoma čašice gde ima najmanje vrednosti. Među podvrstama vrste *S. montana*, na većini karaktera čašice se izdvaja podvrsta *montana* (po većim vrednostima).

Tabela 4.1.5.1. Varijabilnost morfoloških karaktera kod proučavanih vrsta

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>S. montana</i> n=194	<i>S. kitaibelii</i> n=50	<i>S. subspicata</i> n=121
Dužina lista	11.8	***	14.8 ± 3.2 ^a	16.8 ± 2.9	14.4 ± 2.6 ^a
Širina lista	3.5	**	3.0 ± 0.8 ^a	3.3 ± 0.6 ^b	3.1 ± 0.7 ^{ab}
List dužina/širina	6.8	***	5.1 ± 1.1 ^a	5.2 ± 0.9 ^a	4.7 ± 0.9
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	9.6	***	5.0 ± 1.3 ^a	5.9 ± 1.1	5.3 ± 1.1 ^a
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	130.6	***	9.5 ± 3.2 ^a	8.8 ± 2.2 ^a	4.3 ± 2.3
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	157.6	***	12.4 ± 4.4	10.5 ± 2.8	5.0 ± 2.2
Dužina čašice	60.3	***	3.3 ± 1.0 ^a	3.7 ± 0.5 ^a	5.0 ± 1.9
Širina čašice	23.1	***	1.3 ± 0.3 ^a	1.4 ± 0.3 ^a	1.6 ± 0.6
Časica dužina/širina	36.3	***	2.6 ± 0.6 ^a	2.7 ± 0.4 ^a	3.1 ± 0.7
Dužina gornjih zubaca čašice	52.6	***	1.0 ± 0.4 ^a	1.1 ± 0.2 ^a	1.6 ± 0.7
Dužina donjih zubaca čašice	80.4	***	1.4 ± 0.5 ^a	1.3 ± 0.3 ^a	2.4 ± 1.1
Broj žlezdanih trihoma čašice	26.3	***	4.6 ± 1.4 ^a	4.7 ± 1.2 ^a	3.5 ± 1.5

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Vrednosti su date kao srednja vrednost ± SD; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

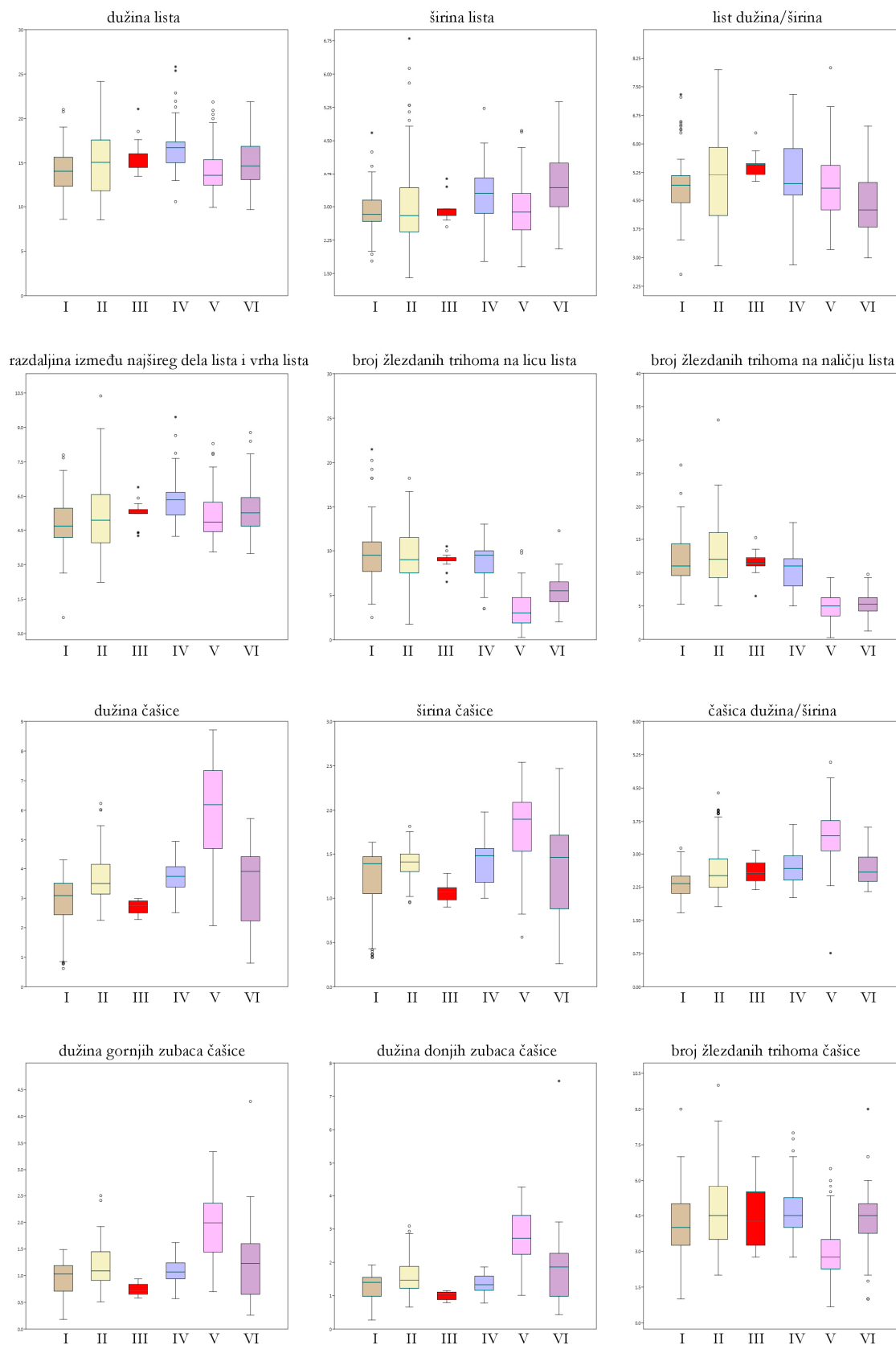


Slika 4.1.5.1. Varijabilnost morfoloških karaktera kod proučavanih vrsta

Tabela 4.1.5.2. Varijabilnost morfoloških karaktera kod svih proučavanih taksona

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>S. montana</i> ssp. <i>variegata</i> n=66	<i>S. montana</i> ssp. <i>montana</i> n=113	<i>S. montana</i> ssp. <i>pisidica</i> n=15	<i>S. kitaibelii</i> n=50	<i>S. subspicata</i> ssp. <i>liburnica</i> n=75	<i>S. subspicata</i> ssp. <i>subspicata</i> n=46
Dužina lista	6.2	***	14.2 ± 2.8 ^{abce}	14.9 ± 3.5 ^{abcde}	16.0 ± 3.0 ^{abcd}	16.8 ± 2.9 ^{bcd}	14.1 ± 2.6 ^{abe}	14.9 ± 2.5 ^{abce}
Širina lista	5.0	***	2.9 ± 0.5 ^{ab}	3.0 ± 1.0 ^{abc}	3.0 ± 0.5 ^{ab}	3.3 ± 0.6 ^{abc}	2.9 ± 0.6 ^{ab}	3.5 ± 0.8 ^{bc}
List dužina/širina	5.6	***	4.9 ± 0.9 ^{abc}	5.1 ± 1.2 ^{ab}	5.5 ± 0.7 ^{ab}	5.2 ± 0.9 ^{ab}	4.9 ± 0.9 ^{abc}	4.3 ± 0.8 ^{ac}
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	4.9	***	4.9 ± 1.2 ^{ab}	5.1 ± 1.5 ^{ab}	5.2 ± 1.2 ^{abc}	5.9 ± 1.1 ^{bc}	5.2 ± 1.0 ^{abc}	5.4 ± 1.1 ^{abc}
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	72.8	***	10.0 ± 3.7 ^a	9.3 ± 3.1 ^a	8.9 ± 3.7 ^a	8.8 ± 2.2 ^a	3.5 ± 2.2	5.5 ± 2.0
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	73.6	***	12.2 ± 4.1 ^a	12.6 ± 4.7 ^a	11.5 ± 3.1 ^a	10.5 ± 2.8 ^a	4.8 ± 2.3 ^b	5.4 ± 1.9 ^b
Dužina čašice	46.1	***	2.7 ± 1.1 ^{ac}	3.7 ± 0.8 ^{be}	2.7 ± 0.3 ^{ace}	3.7 ± 0.5 ^{be}	6.0 ± 1.5	3.5 ± 1.5 ^{bce}
Širina čašice	16.5	***	1.2 ± 0.4 ^{ad}	1.4 ± 0.2 ^{bcd}	1.1 ± 0.2 ^{ad}	1.4 ± 0.3 ^{bcd}	1.8 ± 0.5 ^{bc}	1.3 ± 0.6 ^{abd}
Časica dužina/širina	28.9	***	2.3 ± 0.3 ^{ac}	2.7 ± 0.6 ^{bc}	2.6 ± 0.4 ^{abc}	2.7 ± 0.4 ^{bc}	3.4 ± 0.6	2.7 ± 0.4 ^{bc}
Dužina gornjih zubaca čašice	33.3	***	0.9 ± 0.4 ^{ace}	1.2 ± 0.4 ^{be}	0.7 ± 0.2 ^{ac}	1.1 ± 0.2 ^{be}	1.9 ± 0.6	1.2 ± 0.7 ^{abe}
Dužina donjih zubaca čašice	41.0	***	1.2 ± 0.5 ^{acd}	1.6 ± 0.5 ^{bd}	1.0 ± 0.2 ^{ac}	1.3 ± 0.3 ^{abd}	2.8 ± 0.8	1.8 ± 1.2 ^{bd}
Broj žlezdanih trihoma čašice	19.7	***	4.3 ± 1.4 ^a	4.7 ± 1.5 ^a	4.5 ± 2.0 ^a	4.7 ± 1.2 ^a	3.0 ± 1.2	4.2 ± 1.5 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Vrednosti su date kao srednja vrednost ± SD; *** $P < 0,01$

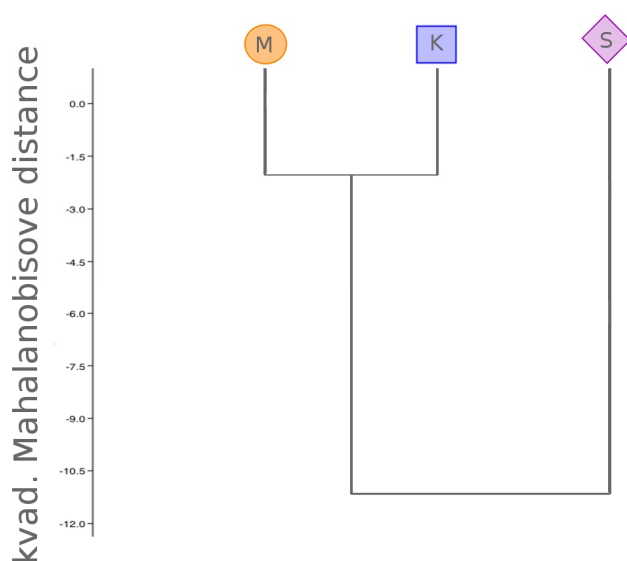


Slika 4.1.5.2. Varijabilnost morfoloških karakterata kod proučavanih podvrsta
 I-spp. montana; II-spp. montana; III-spp. pisidica; IV-spp. kitaibelii; V-spp. liburnica; VI-spp. subspicata

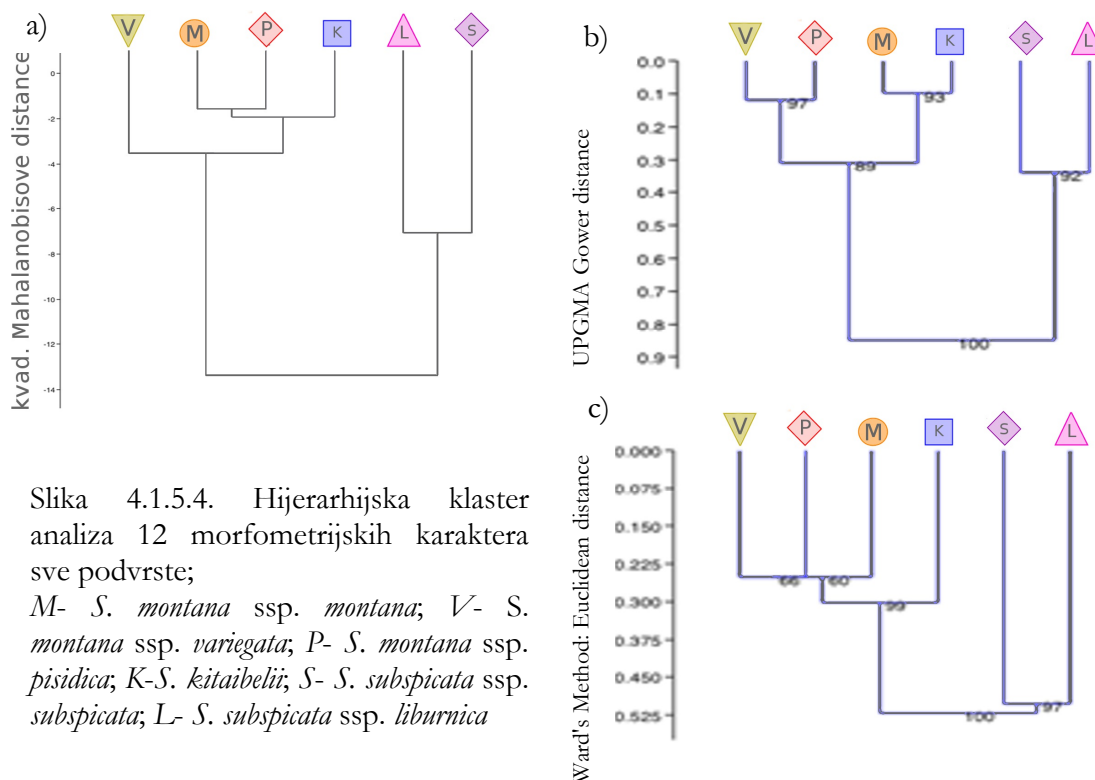
Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziran na svim logaritmovanim morfometrijskim karakteristikama (Slika 4.1.5.3) (kvadrirane Mahalanobisove distance) je pokazao jasno odvajanje vrsta *S. subspicata* od *S. montana*. Takođe, pokazano je da su vrste *S. kitaibelii* i *S. montana* sličnije.

Kvadrirane Mahalanobisove distance sa logaritmovanim morfometrijskim podacima (Slika 4.1.5.4) pokazuju da su dve populacije *S. subspicata* ssp. *liburnica* udaljenije međusobno nego što su *S. kitaibelii* od *S. montana*. Morfometrija smešta *S. kitaibelii* u kompleks *S. montana*, gde se podvrsta *S. montana*, *variegata*, izdvaja čak više od same *S. kitaibelii* koja je izdignuta na nivo vrste. Ovo je posledica toga što je *S. kitaibelii* postala odvojena vrsta tako što je geografski izolovana, dok je *S. montana* ssp. *variegata* morfološki različitija od *S. montana* ssp. *montana*. Gowerove i Euklidske distance (*Ward*-ova metoda) pokazuju jasno izdvajanje obe podvrste *S. subspicata*. Međutim, Gower grupiše dve podvrste, *S. montana* ssp. *variegata* i *S. montana* ssp. *pisidica*, u jednu kladu a u drugu tipsku podvrstu *S. montana* ssp. *montana* i vrstu *S. kitaibelii*, dok Euklidske distance izdvajaju samo vrstu *S. kitaibelii*, a ostale podvrste *S. montana* nemaju dovoljnu rezoluciju za međusobnu diferencijaciju. Podelu unutar samih grupa treba uzeti sa rezervom jer se odnosi samo na merene morfološke karaktere, koji su uzeti, pre svega, radi razgraničenja unutar podvrsta, jer postoji preklapanje areala.



Slika 4.1.5.3. Hijerarhijska klaster analiza 12 morfometrijskih karaktera sa kvadriranim mahalanobisovim distancama - sve vrste



Slika 4.1.5.4. Hijerarhijska klaster analiza 12 morfometrijskih karaktera sve podvrste;

M- *S. montana* ssp. *montana*; V- *S. montana* ssp. *variegata*; P- *S. montana* ssp. *pisidica*; K- *S. kitaibelii*; S- *S. subspicata* ssp. *subspicata*; L- *S. subspicata* ssp. *liburnica*

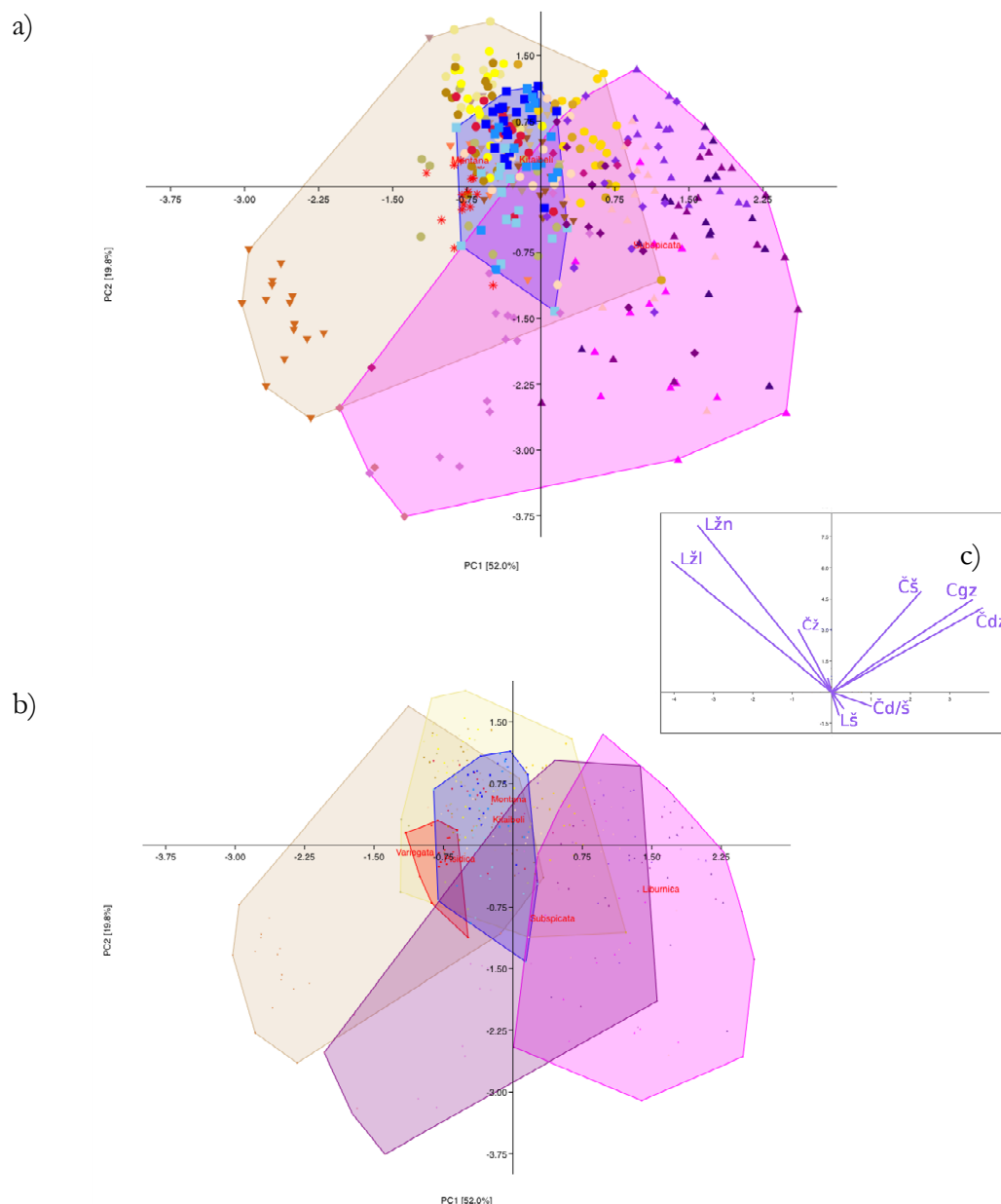
Analiza glavnih komponenti (PCA)

Analizom glavnih komponenti kod 365 individua je utvrđeno 5 morfometrijskih karaktera koji bitno utiču na diferencijaciju individua (Tabela 4.1.5.3). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 71 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.1.5.5). To su brojevi žlezdanih trihoma na listu, kao i osnovni karakteri čašice. Odnos dužine i širine čašice je imao minimalni doprinos diferencijaciji individua. Na osnovu PCA ne postoji jasno odvajanje ova tri taksona zbog njihovog velikog preklapanja. Vrste *S. montana* i *S. subspicata* imaju jednu zonu preklapanja, dok se vrsta *S. kitaibelii* nalazi centralno na scatter plotu i preklapa se sa oba taksona. Kada pogledamo istu sliku samo sa definisanim taksonima, vidimo da se vrsta *S. kitaibelii* jako preklapa sa podvrstama *S. montana* ssp. *montana* i nešto malo sa ssp. *variegata* i *S. subspicata* ssp. *subspicata*. S druge strane podvrsta *S. montana* ssp. *pisidica* je uronjena kompletno u podvrstu *S. montana* ssp. *montana* i preklapa se i sa *S. kitaibelii* i sa podvrstom *S. montana* ssp. *variegata*. Dve podvrste *S. subspicata* imaju zonu preklapanja ali se od svih podvrsta, ove dve najviše međusobno razlikuju.

Tabela 4.1.5.3. Udeo 12 morfometrijskih karaktera u prva tri vektora analize glavnih komponenti

	PC 1	PC 2	PC 3
Dužina lista	0.01	-0.04	0.23
Širina lista	0.02	-0.09	0.31
List dužina/širina	-0.01	0.05	-0.09
Razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista	0.04	-0.06	0.28
Broj žlezdanih trihoma na licu lista	-0.47	0.45	0.52
Broj žlezdanih trihoma na naličju lista	-0.40	0.57	-0.56
Dužina čašice	0.39	0.30	0.02
Širina čašice	0.26	0.35	0.06
Časica dužina/širina	0.12	-0.05	-0.04
Dužina gornjih zubaca čašice	0.42	0.32	0.02
Dužina donjih zubaca čašice	0.45	0.29	0.05
Broj žlezdanih trihoma čašice	-0.10	0.22	0.43

masnim slovima su date vrednosti koje odvajaju taksone.



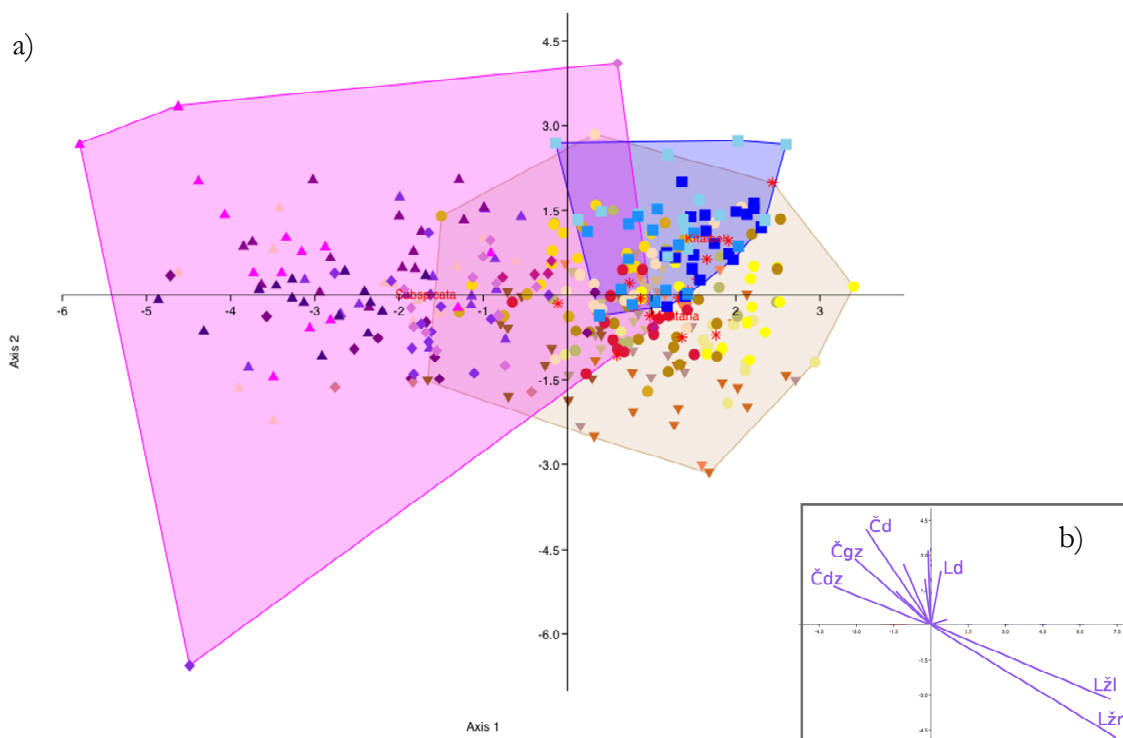
Slika 4.1.5.5. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

a) vrste; b) podvrste; c) glavni vektori;

***S. montana* ssp. *variegata*:** ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk;
ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Zvornik; ● Neretva; ● Makarska;
 ● Gacko; ● Mokrine; **ssp. *pisidica* *** Galičica ***S. kitaibelii*:** ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo;
***S. subspicata* ssp. *liburnica*:** ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske;
ssp. *subspicata*: ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice; ◆ Nikšić; $L_{\text{š}}$ - širina lista; $L_{\text{žl}}$ - broj
 žlezdanih trihoma na licu lista; $L_{\text{žn}}$ - broj žlezdanih trihoma na naličju lista; $\check{C}_{\text{š}}$ - širina čašice; $\check{C}d/\check{C}_{\text{š}}$ -
 čašica odnos dužina/širina; $\check{C}g_{\text{ž}}$ - dužina gornjih zubaca čašice; $\check{C}d_{\text{ž}}$ - dužina donjih zubaca čašice; $\check{C}_{\text{ž}}$ -
 broj žlezdanih trihoma čašice.

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava 87,7 dok druga objašnjava 12,3% ukupne varijabilnosti kada su u pitanju vrste (Slika 4.1.5.6). DA sa vrstama kao grupama je pokazala dosta preklapanja između taksona. Vrsta *S. kitaibelii* se gotovo kompetno preklapa sa vrstom *S. montana*, a jednim delom i sa vrstom *S. subspicata*. Mada, kada pogledamo matrica konfuzije, vidimo da se najveći broj jedinki *S. kitaibelii* drži svoje grupe, a svega 8 bi moglo da se smesti u *S. montana* grupu (Tabela 4.1.5.4). S druge strane, vidimo da jedinke *S. montana* imaju izuzetno izraženu morfološku varijabilnost koja smešta 25% individua u vrste *S. kitaibelii* i *S. subspicata*. Kod vrste *S. subspicata* ubedljivo najveći broj jedinki ostaje u svojoj grupi, dok svega 11 od 120 je morfološki dosta različito i približava se drugim dvema vrstama.



Slika 4.1.5.6. Scatter plot diskriminatne analize svih vrsta

a) sve vrste; b) glavni vektori

***S. montana*:** ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibirj; ● Zvornik; ● Neretva; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica;
***S. kitaibelii*:** ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; ***S. subspicata*:** ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ▲ Gacko; ▲ Biokovo; ▲ Orjen; ▲ Crkvice; ▲ Nikšić; *Ld*- dužina lista; *Lzl*- broj žlezdanih trihoma na licu lista; *Lzn*- broj žlezdanih trihoma na naličju lista; *Čd*-dužina čašice; *Čgz*- dužina gornjih zubaca čašice; *Čdz*- dužina donjih zubaca čašice;

Tabela 4.1.5.4. Matrica konfuzije za diskriminativnu analizu, gde su vrste grupe

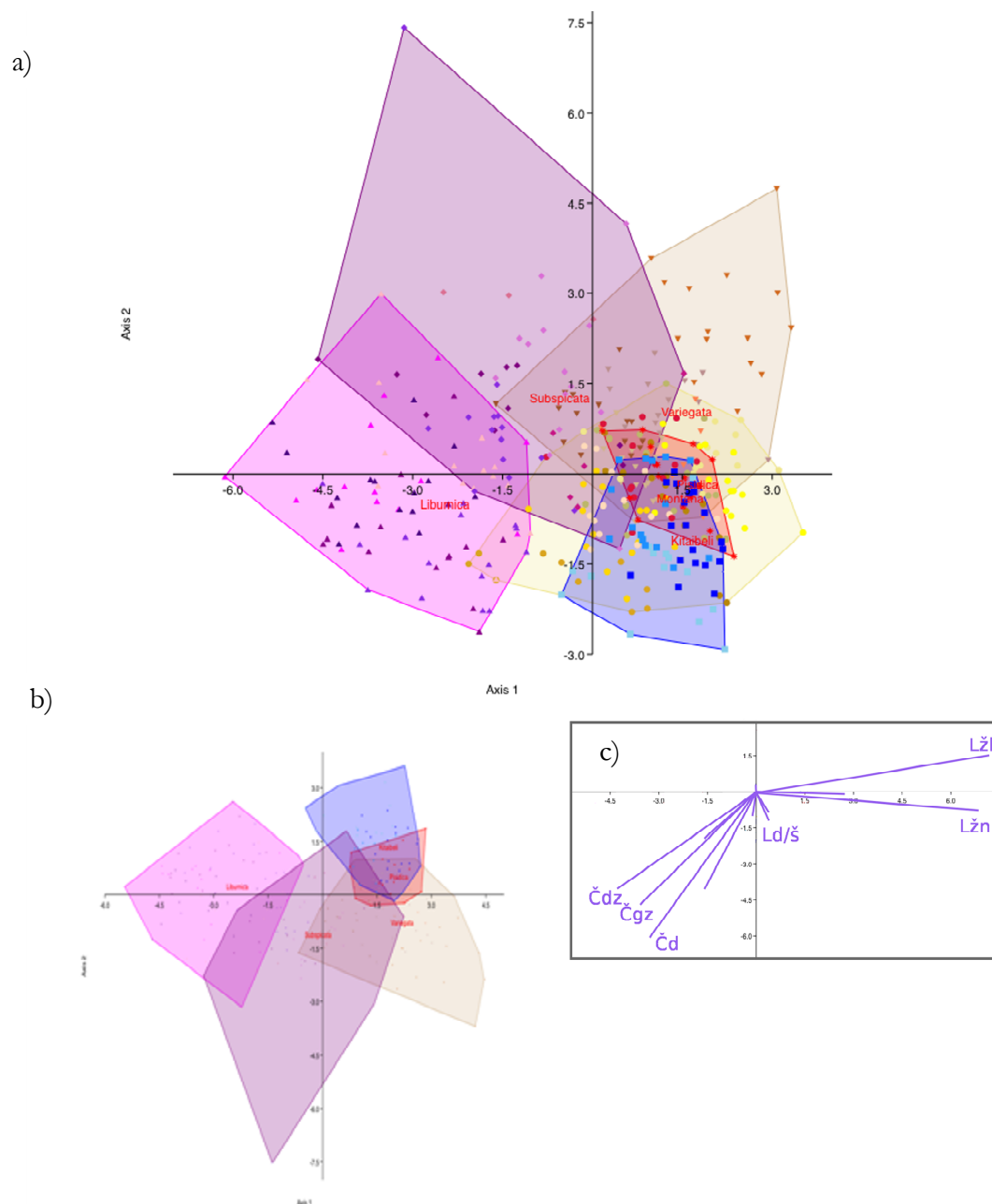
	<i>montana</i>	<i>kitaibeli</i>	<i>subspicata</i>	Σ
<i>montana</i>	147	39	9	195
<i>kitaibeli</i>	8	42	0	50
<i>subspicata</i>	9	2	109	120
Σ	164	83	118	365

Na matrici konfuzije (Tabela 4.1.5.5) vidimo da se podvrste *S. montana* ssp. *pisidica* i *S. subspicata* ssp. *liburnica* drže kao najbolje grupe, potom sledi *S. montana* ssp. *variegata* kod koje je većina jedinki ostala u toj grupi. Kod podvrste *S. montana* ssp. *montana* je najveća varijabilnost i one se nalaze u svim grupama. Vrsta *S. kitaibeli* i podvrsta *S. subspicata* ssp. *subspicata* uglavnom ostaju u svojim grupama, uz po neku jedinku koja prelazi u druge grupe. Ovo sve samo potvrđuje dosadašnje rezultate o izuzetno velikoj morfološkoj varijabilnosti ovih taksona, gde je podvrsta *S. montana* ssp. *montana* smeštena u centar svih obrađenih taksona.

Tabela 4.1.5.5. Matrica konfuzije za diskriminativnu analizu, grupe su taksoni

	<i>variegata</i>	<i>montana</i>	<i>pisidica</i>	<i>kitaibeli</i>	<i>liburnica</i>	<i>subspicata</i>	Σ
<i>variegata</i>	40	14	7	0	0	6	67
<i>montana</i>	14	52	20	21	3	3	113
<i>pisidica</i>	0	1	13	1	0	0	15
<i>kitaibeli</i>	0	8	4	38	0	0	50
<i>liburnica</i>	0	0	0	0	66	8	74
<i>subspicata</i>	2	6	0	1	5	32	46
Σ	56	81	44	61	74	49	365

DA, gde su grupe šest proučavanih taksona, pokazala je gotovo identične rezultate kao i prethodna (Slika 4.1.5.7). Najviše se odvajaju obe podvrste *S. subspicata* uz izvesno preklapanje. Podvrsta *S. montana* ssp. *montana* se pozicionirala na sredini, tako da se ona preklapa sa svim ostalim podvrstama, a svaka druga podvrsta se preklapa sa njom i sa još po nekom drugom podvrstom. Najmanje preklapanja ima *S. subspicata* ssp. *liburnica*, koja se preklapa delimično sa podvrstama *S. subspicata* ssp. *subspicata* i *S. montana* ssp. *montana*. *S. montana* ssp. *variegata* se najviše odvajaju od svih *S. montana* ali se i preklapa sa podvrstama *S. subspicata* ssp. *subspicata*, *S. montana* ssp. *pisidica* i *montana*, kao i sa vrstom *S. kitaibeli*. *S. montana* ssp. *pisidica* je kompletno preklapljen sa podvrstama *S. montana* i dobrim delom sa *S. kitaibeli*. Najviše se izdvaja kod *S. subspicata* ssp. *subspicata* jedinka sa Orjena SS64.06, a kod *S. montana* ssp. *variegata* to je individua iz Vodnjana SMV46.01.



Slika 4.1.5.7. Scatter plot diskriminantne analize

a) svi taksoni; b) transformisani podaci; c) glavni vektori;

***S. montana*: ssp. *variegata*:** ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk;
ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Zvornik; ● Neretva; ● Makarska;
 ● Gacko; ● Mokrine; **ssp. *pisidica* *** Galičica; ***S. kitaibelii*:** ■ Đerdap; ■ Temšica;
 ■ Poganovo; ***S. subspicata*: ssp. *liburnica*:** ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit;
 ▲ Đevrske; **ssp. *subspicata*:** ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice; ◆ Nikšić; *Ld/š*-list
 odnos dužina/širina; *Lžl*- broj žlezdanih trihoma na licu lista; *Lžn*- broj žlezdanih trihoma na
 naličju lista; *Čd*-dužina čašice; *Čgz*- dužina gornjih zubaca čašice; *Čdz*- dužina donjih zubaca
 čašice;

4.2. Flavonoidi

4.2.1. Sastav flavonoida kod proučavanih vrsta roda *Satureja*

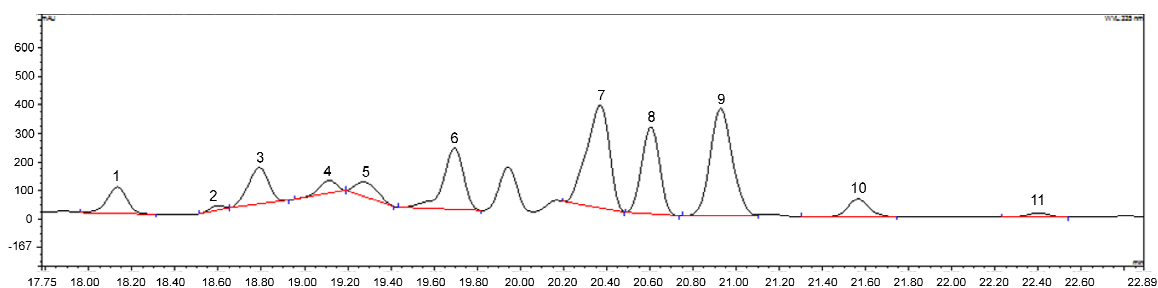
Pronađeno je ukupno 11, a identifikovano 10 flavonoida na površini listova kod proučavanih vrsta roda *Satureja* (Tabela 4.2.1.1). U prilogu B1-6 su dati LC-MS hromatogrami i UV i MS spektri izolovanih flavonoida. Jedino su kod populacija *S. subspicata* ssp. *subspicata* bili prisutni svi, dok se kod druge dve vrste u zavisnosti od populacije broj jedinjenja kretao od 5 do 10 (*S. montana*) i od 7 do 10 (*S. kitaibelii*).

Identifikovan je jedan flavanon, dok su sva ostala jedinjenja bili flavoni, najbrojniji su dvostruko supstituisani hidroksi i trostruko supstituisani sa metoksi grupama (Slika 4.2.1.1).

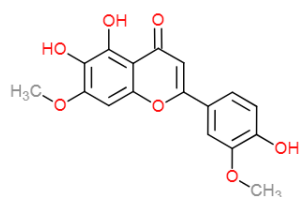
Podvrste *S. montana* imaju različite dominantne komponente, tipska podvrsta ima najveći udeo cirzimaritina, ssp. *variegata* 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavona a ssp. *pisidica* ksantomikrola. Populacije *S. kitaibelii* u najvećem procentu imaju ksantomikrol, osim kod jedne populacije koja ima cirzimaritin. Profil flavonoida kod *S. subspicata* ssp. *liburnica* se odlikuje najvećim udelom ksantomikrola skoro 60%. Međutim, kod populacija tipske podvrste, gde su pronađeni svi flavonoidi, njihova zastupljenost je do 25%, pri čemu je kod svake populacije različita glavna komponenta.

Tabela 4.2.1.1. LC-DAD retenciona vremena, HPLC UV apsorpcioni maksimumi i podaci APCI-masenog spektra za površinske flavonoide kod proučavanih vrsta roda *Satureja*

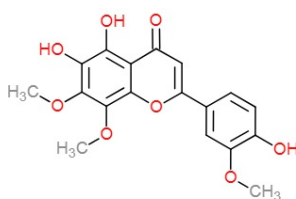
	Naziv flavonoida	Hemijska formula	Tip jedinjenja	R _t (min) (LC-DAD)	UV λ _{max} (nm)	MH ⁺ (m/z)
1	5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	flavon	18,11	289, 345	331
2	Neidentifikovano jedinjenje		flavon	18,56	283,341	
3	5,6,4'-triOH-7,8,3'-triOMe (timonin)	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	flavon	18,77	289, 346	361
4	5,4'-diOH- 6,7-diOMe	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	flavanon	19,08	289, 340	317
5	5,6-diOH-7,3',4'-triOMe	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	flavon	19,23	280, 342	345
6	5,3',4'-triOH-6,7,8-triOMe (8-metoksicirzilol)	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	flavon	19,69	278, 350	361
7	5,4'-diOH-6,7-diOMe (cirzimaritin)	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	flavon	20,28	275, 334	315
9	5,4'-diOH-6,7,8,3'-tetraOMe (8-metoksicirzilineol)	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	flavon	20,61	280, 341	375
8	5-diOH-6,7,8-triOMe (ksantomikrol)	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	flavon	20,95	280, 332	345
11	5-OH-6,7,8,4'-tetraOMe (gardenin B)	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	flavon	21,55	283, 330	359
10	5-OH-6,7,4'-triOMe (salvigenin)	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	flavon	22,35	276, 332	329



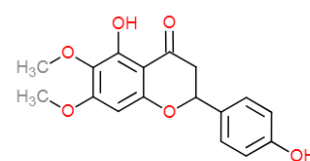
1 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe



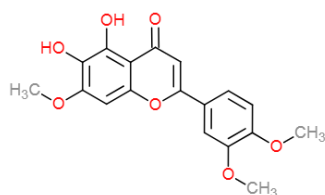
3 Timonin



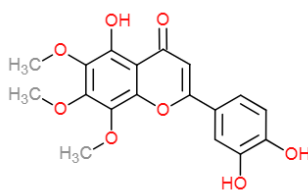
4 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon



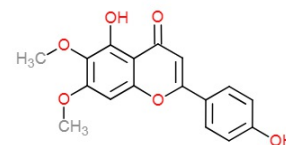
5 5,6-diOH-7,3,4'-triMe flavon



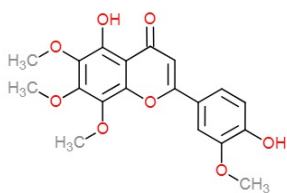
6 8-metoksicirziliol



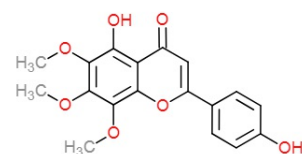
7 Cirzimaritin



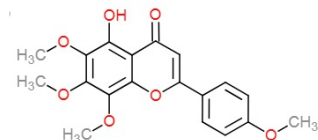
8 8-metoksicirzilineol



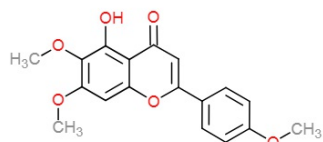
9 Ksantomikrol



10 GardeninB



11 Salvigenin

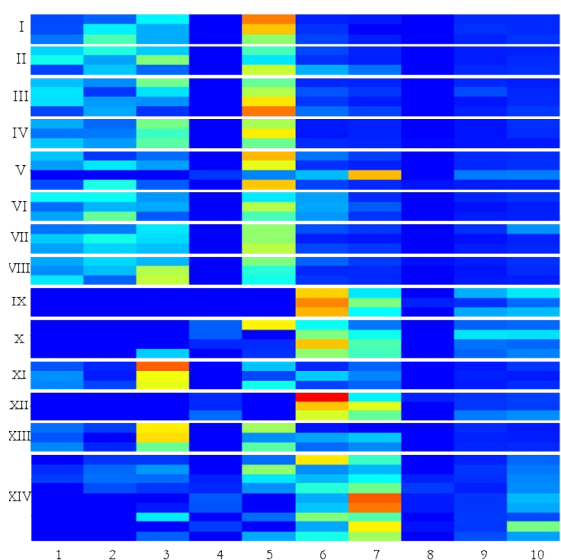


Slika 4.2.1.1. Hromatogram sa identifikovanim flavonoidima i njihove strukturne formule.

4.2.2. Varijabilnost površinskih flavonoida kod *Satureja montana*

Univarijantne analize

Matriks plot (Slika 4.2.2.1) pokazuje veliku varijabilnost svih komponenti, a sa druge strane uzorkovano je po nekoliko individua po populaciji, što može da ukazuje na to da su statistički značajna odvajanja slučajnost, međutim, i takav rezultat potvrđuje veliku varijabilnost površinskih flavonoida kod vrste *S. montana*.



Slika 4.2.2.1. Matriks plot
ssp. *variegata*: I-Bovec; II-Crni vrh; III-Divača; IV-Vodnjan; V-Krk;
ssp. *montana*: VI-Jadranovo; VII-Zlobin; VIII-Sibinj; IX-Zvornik; X-Neretva; XI-Makarska; XII-Gacko; XIII-Mokrine;
ssp. *pisidica*: XIV-Galičica;
1- 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe; 2- ND, 3-Timonin; 4- 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon; 5- 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon; 6- Cirzimaritin; 7- Ksantomikrol; 8- 8-metoksicirzilineol; 9- Salvigenin; 10- Gardenin B

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 14 populacija vrste *Satureja montana*, uključujući populacije sve tri podvrste (Tabela 4.2.2.1). Pokazano je značajno razlikovanje između sve tri podvrste na osnovu 8 od 10 flavonoida. Jedino se ne mogu razlikovati na osnovu količina timonina i salvigenina. Urađena je dosta konzervativnija *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$), koja je pokazala da se najviše razlikuje podvrsta *pisidica* od druge dve podvrste. Podvrsta *pisidica* se od druge dve podvrste razlikuje na osnovu flavonoida 1, 7, 8 i 10, dok se dodatno razlikuje od podvrste *variegata* na osnovu komponenti 2 (ND) i 4 (5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanona). Ne postoji nijedan flavonoid na osnovu kojeg se razlikuje samo od podvrste *montana*, dok se podvrsta *variegata* razlikuje od druge dve na osnovu dva flavonoida (5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavona i cirzimaritina). Matriks plot pokazuje da se svega 2 komponente nalaze u tragovima, dok se čak 4 komponente nalaze u nešto većem udelu u profilu. Distribucija flavonoida pokazuje veliku varijabilnost unutar populacija.

Tabela 4.2.2.1 Procentualna zastupljenost flavonoida kod svih proučavanih podvrsta *S. montana*

		<i>F</i>	<i>P</i>	ssp. <i>variegata</i> n=17	ssp. <i>montana</i> n=25	ssp. <i>pisidica</i> n=9
1	5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	9.3	***	12.0 ± 6.3 ^a	7.5 ± 7.1 ^a	1.0 ± 1.9
2	ND	6.0	***	13.7 ± 7.5^a	7.2 ± 9.1 ^{ab}	3.2 ± 4.0 ^b
3	Timonin	2.2	-	17.0 ± 9.9^a	18.0 ± 18.0^a	6.7 ± 6.4 ^a
4	5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	3.3	*	0.3 ± 1.1 ^a	1.4 ± 2.8 ^{ab}	2.8 ± 3.1 ^b
5	5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	16.1	***	37.6 ± 11.7	17.5 ± 15.0^a	10.8 ± 10.9 ^a
6	Cirzimaritin	6.8	***	6.1 ± 4.1	22.1 ± 19.4^a	21.9 ± 10.6^a
7	Ksantomikrol	17.7	***	6.1 ± 11.0 ^a	13.7 ± 11.1 ^a	34.4 ± 14.0
8	8-metoksicirsilineol	7.3	***	0.1 ± 0.4 ^a	0.3 ± 0.8 ^a	1.5 ± 1.7
9	Salvigenin	1.6	-	3.3 ± 2.1 ^a	5.3 ± 4.8 ^a	4.3 ± 1.1 ^a
10	Gardenin B	11.7	***	3.8 ± 1.9 ^a	6.8 ± 5.3 ^a	13.5 ± 7.2

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Procentualne zastupljenosti flavonoida su date kao srednja vrednost ± SD; tri najveće vrednosti su obeležene masnim slovima; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$; * $P = 0,05$

ANOVA je pokazala statistički značajnu diferencijaciju svih populacija *S. montana* na osnovu 9 od 10 komponenti (Tabela 4.2.2.2). Uglavnom se Hrvatske populacije podvrste *montana* ne razlikuju od podvrste *variegata*, osim po neke populacije na pojedinim flavonoidima. Jako se izdvajaju populacije Zvornik, Neretva i Gacko, u odnosu na sve ostale. Jedino se populacija podvrste *pisidica* odvajala od velike većine populacija podvrsta *variegata* i *montana*, na osnovu nekoliko flavonoida, pre svega 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe i ksantomikrola.

Tabela 4.2.2.2. Procentualna zastupljenost flavonoida prisuttnih kod svih proučavanih populacija vrste *S. montana*

	<i>F</i>	<i>P</i>	ssp. <i>variegata</i> Bovec n=3	ssp. <i>variegata</i> Crni vrh n=3	ssp. <i>variegata</i> Divača n=4	ssp. <i>variegata</i> Vodnjan n=3	ssp. <i>variegata</i> Krk n=4	ssp. <i>montana</i> Jadranovo n=3
1 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	25.5	***	7.4 ± 2.1 ^{abc}	15.2 ± 8.8 ^{ab}	14.9 ± 6.3^{ab}	13.6 ± 3.5^{ab}	9.0 ± 7.3 ^{abc}	14.9 ± 6.5^{ab}
2 ND	24.5	***	18.7 ± 9.7^w	18.1 ± 5.3^w	10.9 ± 4.3 ^w	10.7 ± 2.1 ^w	11.9 ± 11.4^w	22.3 ± 7.4^w
3 Timonin	21.4	***	16.4 ± 3.5^{abc}	19.3 ± 11.9^{abc}	16.5 ± 11.2^{abc}	28.8 ± 2.3^{abd}	7.5 ± 5.5 ^{ac}	11.4 ± 3.6 ^{abc}
4 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	25.3	***	– ^a	– ^a	– ^a	– ^a	1.1 ± 2.2 ^a	– ^a
5 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	31.6	***	44.6 ± 10.4^{abc}	28.2 ± 9.4^w	41.1 ± 10.5^w	36.6 ± 6.9^w	36.8 ± 17.4^w	27.6 ± 8.3^w
6 8-metoksicirziliol	46.0	***	– ^a	– ^a	– ^a	– ^a	– ^a	– ^a
7 Cirzimaritin	8.71	***	4.2 ± 1.5 ^{ad}	8.2 ± 5.6 ^{ad}	6.0 ± 2.7 ^{ad}	2.5 ± 0.9 ^{ad}	8.7 ± 5.3 ^{ad}	13.3 ± 0.6 ^{ad}
8 Ksantomikrol	30.5	***	1.6 ± 1.4 ^{abc}	5.0 ± 4.0 ^w	3.8 ± 1.5 ^w	2.9 ± 0.3 ^w	14.9 ± 22.2^w	5.2 ± 2.2 ^w
9 8-metoksicirzilineol	29.3	***	– ^a	– ^a	– ^a	0.2 ± 0.4 ^a	0.4 ± 0.8 ^a	– ^a
10 Salvigenin	1.02	–	3.5 ± 0.6 ^{ab}	2.6 ± 0.5 ^{ab}	3.5 ± 2.1 ^{ab}	1.6 ± 0.2 ^{ab}	4.8 ± 3.6 ^{abc}	2.2 ± 0.8 ^{ab}
11 Gardenin B	41.0	***	3.7 ± 0.5 ^{abc}	3.4 ± 0.6 ^{abc}	3.4 ± 1.0 ^{abc}	3.2 ± 1.1 ^{abc}	5.2 ± 3.6 ^{abc}	3.0 ± 0.9 ^{abc}

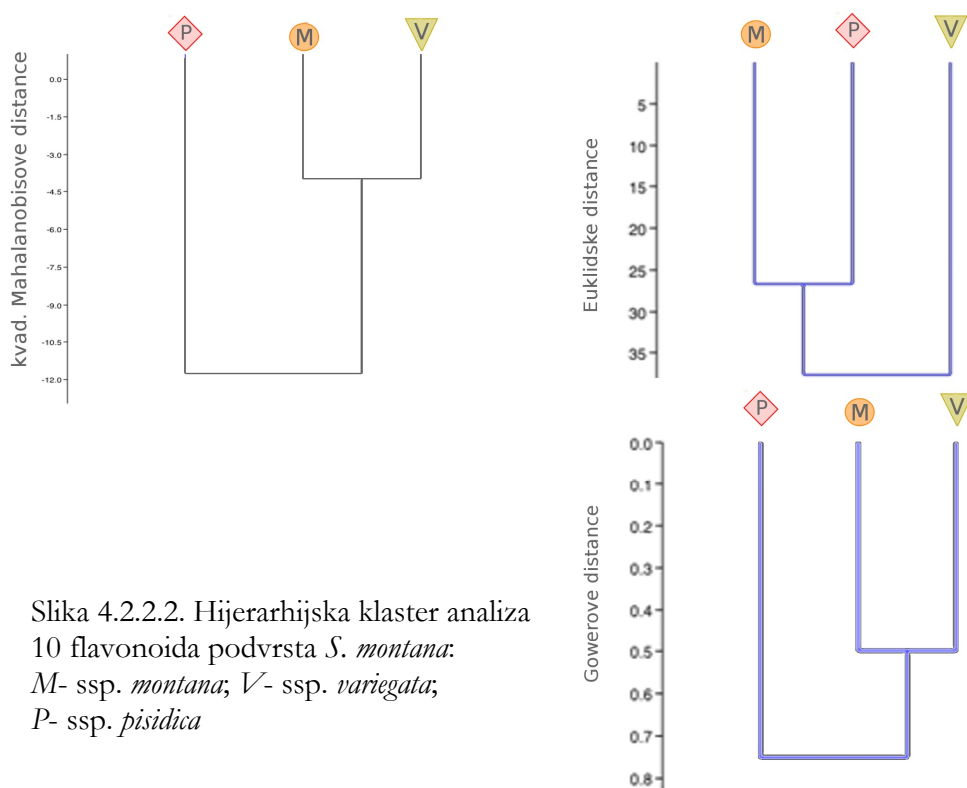
nastavak tabele 4.2.2.2

	<i>F</i>	<i>P</i>	ssp. <i>montana</i> Zlobin n=3	ssp. <i>montana</i> Sibinj n=3	ssp. <i>montana</i> Zvornik n=3	ssp. <i>montana</i> Neretva n=4	ssp. <i>montana</i> Makarska n=3	ssp. <i>montana</i> Gacko n=3	ssp. <i>montana</i> Mokrine n=3	ssp. <i>pisidica</i> Galičica n=9
1 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	25.5	***	13.3 ± 3.6 ^{ab}	15.1 ± 3.9^{ab}	– ^{ac}	– ^{ac}	10.1 ± 2.6^{abc}	– ^{ac}	9.2 ± 2.0 ^{abc}	1.0 ± 1.9 ^{ac}
2 ND	24.5	***	17.0 ± 6.3^w	14.0 ± 5.1 ^w	– ^w	– ^w	3.7 ± 1.8 ^w	– ^w	2.8 ± 2.6 ^w	3.2 ± 4.0 ^w
3 Timonin	21.4	***	17.9 ± 1.7^{abc}	29.7 ± 12.4^{abd}	– ^{ac}	4.2 ± 8.5 ^{ac}	45.8 ± 8.5^{bd}	– ^{ac}	39.7 ± 8.4^{bd}	6.7 ± 6.4 ^{ac}
4 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	25.3	***	– ^a	– ^a	– ^a	4.7 ± 3.8 ^a	– ^a	5.1 ± 3.2 ^a	– ^a	2.8 ± 3.1 ^a
5 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	31.6	***	34.6 ± 2.0^w	26.3 ± 4.9^w	– ^{bde}	12.7 ± 20.5^w	15 ± 8.5^w	– ^{bde}	25.1 ± 11.8^w	10.8 ± 10.9 ^w
6 8-metoksicirziliol	46.0	***	– ^a	– ^a	– ^a	– ^a	1.8 ± 3.2 ^a	– ^a	– ^a	– ^a
7 Cirzimaritin	8.71	***	5.0 ± 2.2 ^{ad}	5.2 ± 2.6 ^{ad}	49.2 ± 3.1^{bc}	33.6 ± 10.4^{bcd}	8.6 ± 7.2 ^{ad}	50.0 ± 12.6^{bc}	8.1 ± 6.2 ^{ad}	21.9 ± 10.6^{ad}
8 Ksantomikrol	30.5	***	3.6 ± 1.6 ^w	3.9 ± 0.9 ^w	24.1 ± 6.6^w	21.8 ± 8.2^w	9.2 ± 1.6 ^w	30.1 ± 9.9^w	9.4 ± 8.5^w	34.4 ± 14.0^{cde}
9 8-metoksicirzilineol	29.3	***	– ^a	0.4 ± 0.8 ^a	0.9 ± 1.6 ^a	– ^a	– ^a	1.0 ± 1.7 ^a	– ^a	1.5 ± 1.7 ^a
10 Salvigenin	1.02	–	2.5 ± 1.4 ^{ab}	2.1 ± 0.4 ^{ab}	11.0 ± 6.0 ^{bc}	11.3 ± 5.3 ^{bc}	2.3 ± 0.3 ^{ab}	6.3 ± 3.4 ^{abc}	3.1 ± 0.3 ^{abc}	4.3 ± 1.1 ^{abc}
11 Gardenin B	41.0	***	6.0 ± 5.3 ^{abc}	3.3 ± 0.8 ^{abc}	14.8 ± 5.3^{ab}	11.7 ± 4.8 ^{abc}	3.5 ± 1.1 ^{abc}	7.5 ± 3.9^{abc}	2.6 ± 0.7 ^{ac}	13.5 ± 7.2^{abc}

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f,g,h,i} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); pri čemu ^w označava da se populacija nalazi u više od tri grupe; Procentualne zastupljenosti flavonoida su date kao srednja vrednost ± SD; najveće vrednosti su obeležene masnim slovima ; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$; * $P = 0,05$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

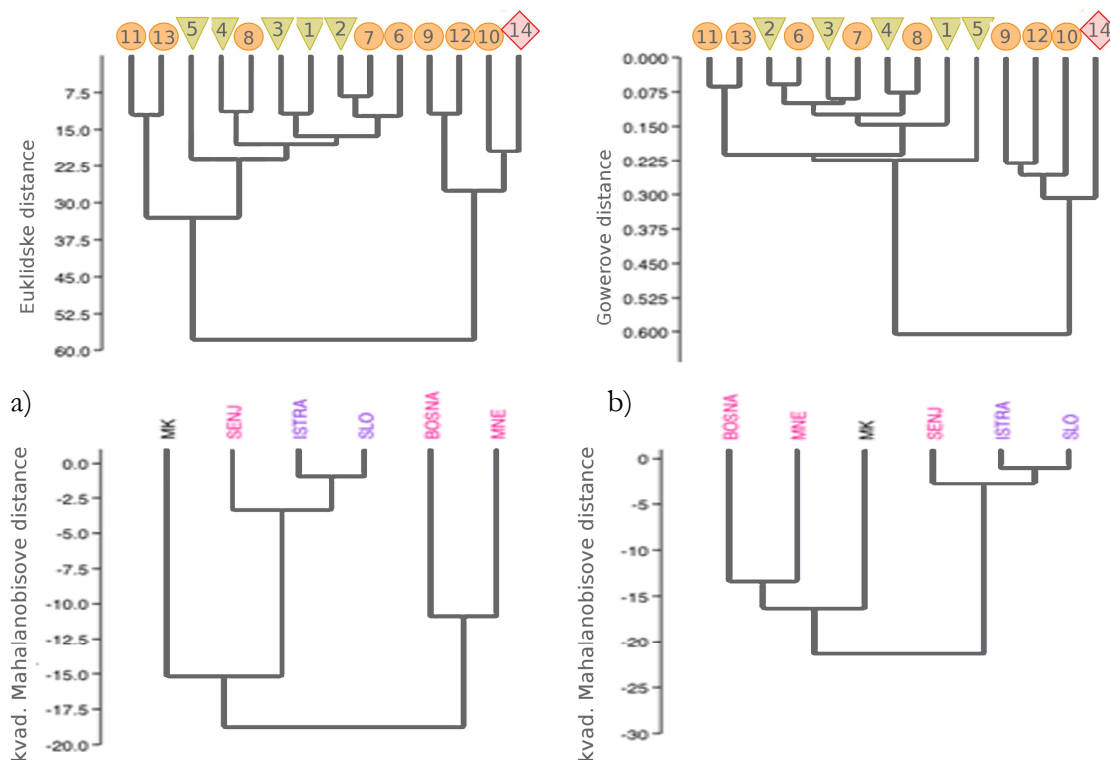
Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 10 flavonoida (Slika 4.2.2.2), je pokazao različite rezultate u odnosu na to koje su distance korišćene. Euklidske distance daju prednost razlikovanja podvrste *variegata* od ostalih, dok i Gowerove i kvadrirane Mahalanobisove daju prednost razlikovanju podvrste *pisidica*. Ako se obrati pažnja na vrednosti, vidi se da su srednje vrednosti za podvrstu *montana* za gotovo svaku komponentu intermedijarne u odnosu na podvrstu *variegata*, tako da ovi rezultati nisu neočekivani.



Slika 4.2.2.2. Hijerarhijska klaster analiza 10 flavonoida podvrsta *S. montana*:
M- ssp. *montana*; V- ssp. *variegata*;
P- ssp. *pisidica*

Dendrogram dobijen HCA analizom kod svih populacija (Slika 4.2.2.3) ne pokazuje jasno grupisanje populacija po podvrstama. Zbog malog broja individua po populaciji nije bilo moguće uraditi sa kvadriranim Mahalanobisovim distancama. Situacija je nešto jasnija kada spojimo geografski bliske populacije u meta-populacije/regione, i to populacije Bovec, Crni Vrh i Divača u meta-populaciju SLO, populacije Vodnjan i Krk u meta-populaciju ISTRA, populacije Jadranovo, Zlobin i Sabinj u grupu SENJ, populacije Zvonik i Neretvu u grupu BIH, populacije Makarsku i Mokrine u MNE, te populaciju Galičicu u MK. Tada dobijamo geografsku distribuciju. Meta-populacije Slovenija i Istra se grupišu zajedno.

Njima je najbližija geografski im najbliža podvrsta *montana* iz grupe SENJ. Podvrsta *pisidica* se odvaja, ali se grupiše bliže kontinentalnim populacijama podvrste *montana* iz meta-populacija Bosna i MNE. Ukoliko pak prebacimo Makarsku u grupu SENJ, onda nam se opet pokazuje geografsko grupisanje, s tim da se sada populacija podvrste *pisidica* približava jadranskim populacijama, dok se izdvajaju meta-populacije Bosna i Crna Gora. Ovi rezultati pokazuju da su geografski bliže populacije sličnije. Euklidske distance i Gower grupišu kontinentalne populacije u jednu granu, populacije ISTRA, SENJ i SLO na drugu, a populacije Mokrine i Makarsku (MNE) u treću, prave neke 3 grupe. Populacije Zvornik i Gacko su jako slične, njima je najbližija Neretva kao i Galičica. Makarska i Mokrine su jako slične. Kvadrirane Mahalanobisove distance prave takođe, 3 grupe, sa opcijom constrain se vidi podela na kontinentalne grupe (MK, BiH i MNG) i primorske (SENJ, ISTRA i SLO).



Slika 4.2.2.3. Hijerarhijska klaster analiza 10 flavonoida populacije *S. montana*

a) kvadrirane Mahalanobisove distance bez constrain opcije; b) kvadrirane Mahalanobisove distance sa constrain opcijom

Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost sastava proučavanih 10 površinskih flavonoida kod 51 individue je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose PCA objašnjavaju oko 82 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.2.2.4). Međutim, analiza glavnih komponenti je pokazala da svih 10 komponenti doprinosi diferencijaciji individua, a ne podvrsta. Podvrste *variegata* i *pisidica* imaju najmanju varijabilnost, dok varijabilnost podvrste *montana* prekriva skoro celokupnu varijabilnost druge dve podvrste. Takođe, analiza glavnih komponenti ukazuje na specijalizaciju. Pojedine populacije podvrste *montana* koje rastu dublje u kontinentu (Neretva, Zvornik, Gacko) su se približile podvrsti *pisidica*, a populacije koje su severno i bliže obali (Jadranovo, Zlobin) su se približile podvrsti *variegata*.

Diferencijaciji najviše doprinose 4 komponente, na šta su ukazale i ANOVA i matriks plot, međutim, ni ostale se ne mogu zanemariti.

PCoA analiza (Gowerove distance) je dala iste rezultate (Slika 4.2.2.5). Podvrsta *montana* varira koliko druge dve podvrste zajedno. Rezultati ove analize objašnjavaju poklapanje Euklidskih i Gowerovih distanci u hijerarhijskoj analizi (HCA).

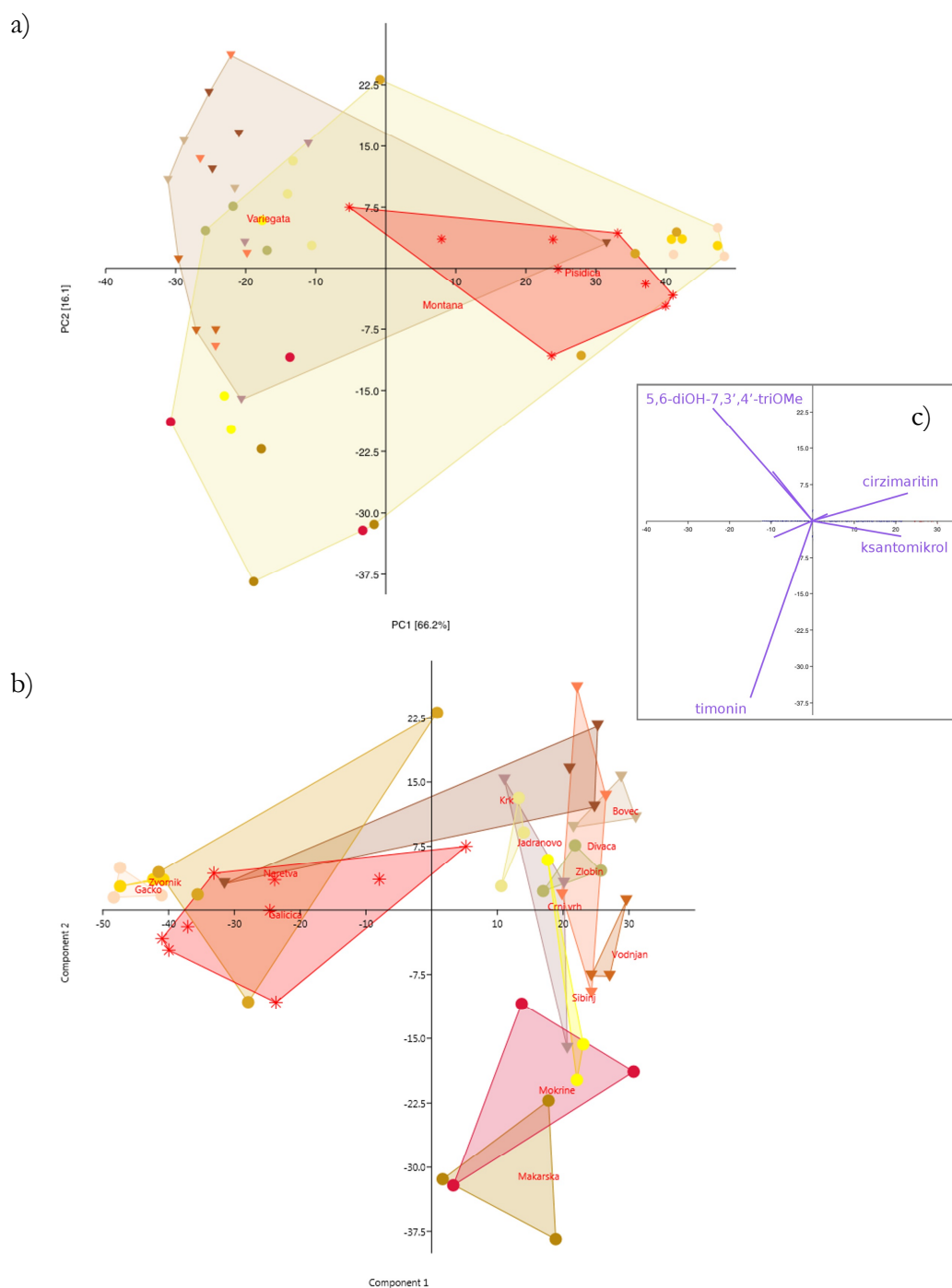
Tabela 4.2.2.4. Udeo 10 površinskih flavonoida u prva tri vektora

		PC 1	PC 2	PC 3
1	5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	-0.21	-0.07	-0.08
2	ND	-0.22	0.23	-0.05
3	Timonin	-0.33	-0.81	-0.12
4	5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	0.05	0.02	0.09
5	5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	-0.53	0.52	0.07
6	Cirzimaritin	0.51	0.13	-0.72
7	Ksantomikrol	0.48	-0.07	0.64
8	8-metoksicirzilneol	0.01	0.01	0.02
9	Salvigenin	0.08	0.03	-0.04
10	Gardenin B	0.15	0.04	0.20

Tabela 4.2.2.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, grupe su populacije *S. montana*

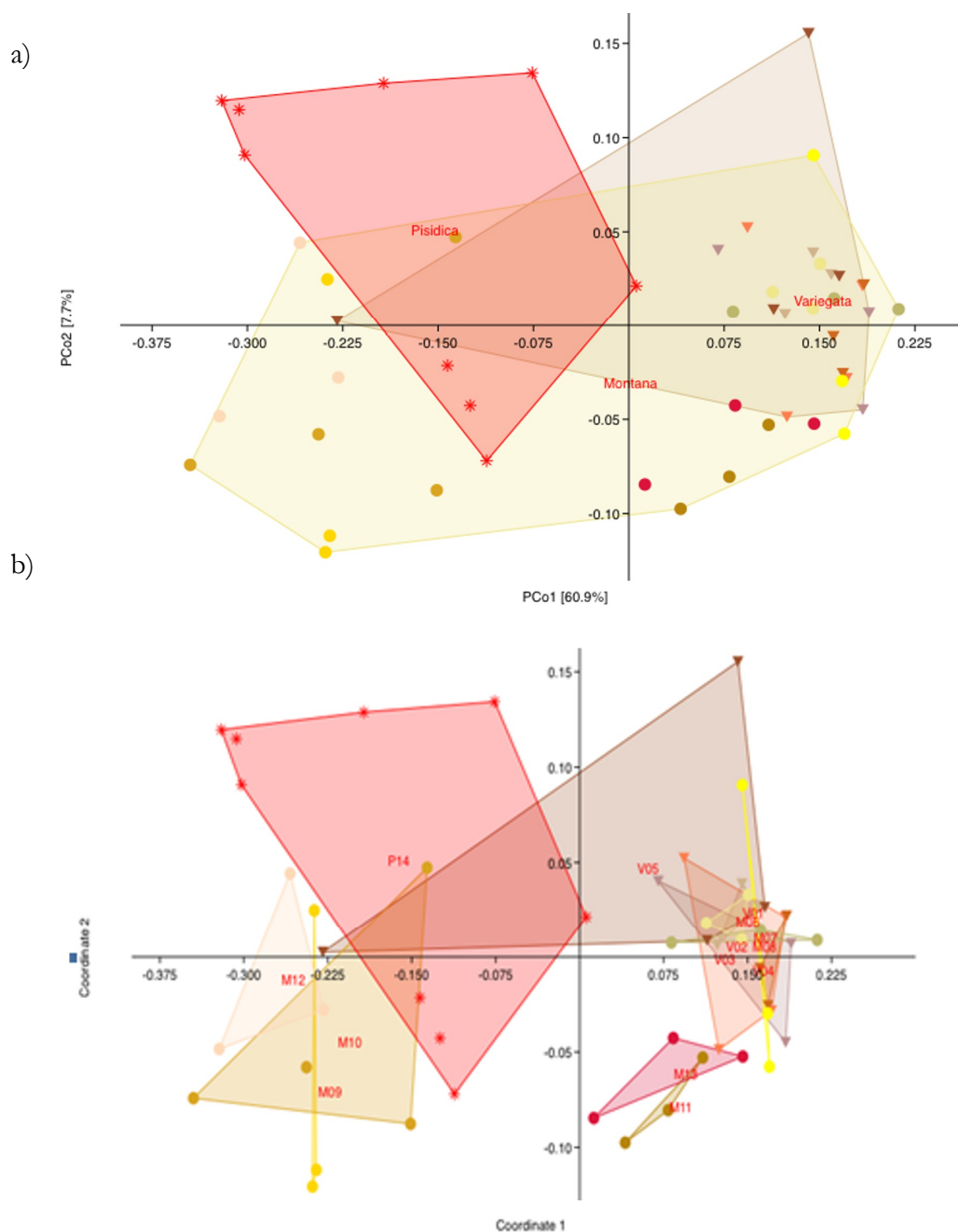
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	Σ
I	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
II	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
III	0	0	2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	4
IV	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
V	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4
VI	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
VII	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	3
VIII	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	3
IX	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3
X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1	4
XI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	3
XII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
XIII	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3
XIV	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	7	9
Σ	5	2	3	3	3	2	5	5	3	3	2	4	3	8	51

ssp. *variegata*: I-Bovec; II-Crni vrh; III-Divača; IV-Vodnjan; V-Krk; ssp. *montana*: VI-Jadranovo; VII-Zlobin; VIII-Sibinj; IX-Zvornik; X-Neretva; XI-Makarska; XII-Gacko; XIII-Mokrine; ssp. *pisidica*: XIV-Galičica; Σ-ukupno

Slika 4.2.2.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) *S. montana*

a) sve tri podvrste; b) sve populacije; c) glavne komponente;

▴ Bovec; ▴ Crni vrh; ▴ Divača; ▴ Vodnjan; ▴ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj;
 ● Zvornik; ● Neretva ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica



Slika 4.2.2.5. Scatter plot (PCoA) *S. montana*

a) sve tri podvrste; b) sve populacije; ▼ Bovec; ▼ Crni vrh; ▼ Divača; ▼ Vodnjan; ▼ Krk;
 ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibirj; ● Zvornik; ● Neretva ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine;
 * Galičica

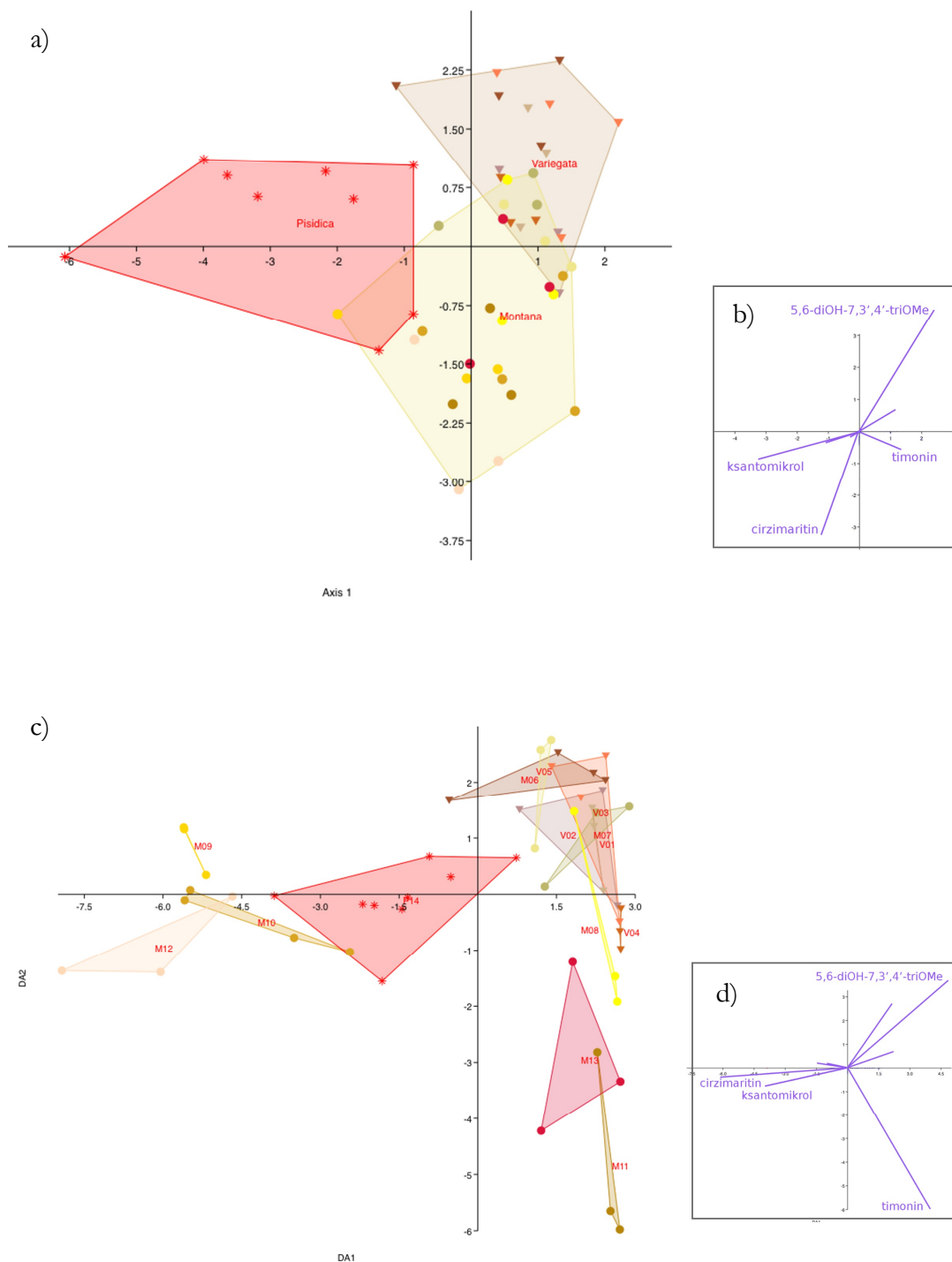
Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 67 % dok druga objašnjava oko 32 % ukupne varijabilnosti kada su u pitanju podvrste. Diskriminantna analiza je uspjela da odvoji sve tri podvrste uz izvesno preklapanje (Slika

4.2.2.6). Matrica konfuzije je smestila sve individue podvrste *variegata* u tu podvrstu, sem 1 koja prelazi u podvrstu *montana*, takođe, smestila je i većinu jedinki iz podvrste *pisidica* u tu podvrstu (1 u podvrstu *variegata* a 2 u podvrstu *montana*). Najviše jedinki iz podvrste *montana* se pronašlo u druge dve podvrste (6 u podvrsti *variegata* a 1 u podvrsti *pisidica*). DA je, za razliku od prethodnih analiza, uspela da pronađe tri komponente koje najviše doprinose odvajanju taksona i to ksantomikrol, cirzimaritin i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon.

Međutim, kada su grupe bile populacije DA nije uspela da pronađe komponente koje najviše doprinose njihovom odvajanju. Diskriminantna analiza je pokazala bolje odvajanje populacija u odnosu na PCA, ali se taksoni ne grupišu jasno kao na DA gde su grupe taksoni (Slika 4.2.2.6), zbog većeg broja jedinki koje su se pronašle van svojih populacija, što ukazuje da populacije nisu dobre grupe. Matrica konfuzije je pokazala da su samo jedinke iz populacija Bovec, Zvornik, Neretva i Gacko ostali u svojim grupama, dok su se ostale jedinke uglavnom držale svojih grupa, po jedna jedinka iz populacija Crni vrh, Divača, Vodnjan i Krk su se pronašli u podvrsti *montana*, isti broj jedinki iz populacija Zlobin i Mokrine se našle u podvrsti *variegata*. Iz populacije Galičica (podvrsta *pisidica*) dve jedinke su otišle u druge dve podvrste (Tabela 4.2.2.5). Populacije podvrste *montana* Jadranovo, Zlobin i delimično Sibinj se mešaju sa populacijama podvrste *variegata*. Dok su se ostale populacije podvrste *montana* podelile na dve grupe, populacije koje rastu dublje u kontinentu (Zvornik, Neretva i Gacko) su se približile podvrsti *pisidica* a populacije Makarska i Mokrine su se izdvojile na svoju stranu.

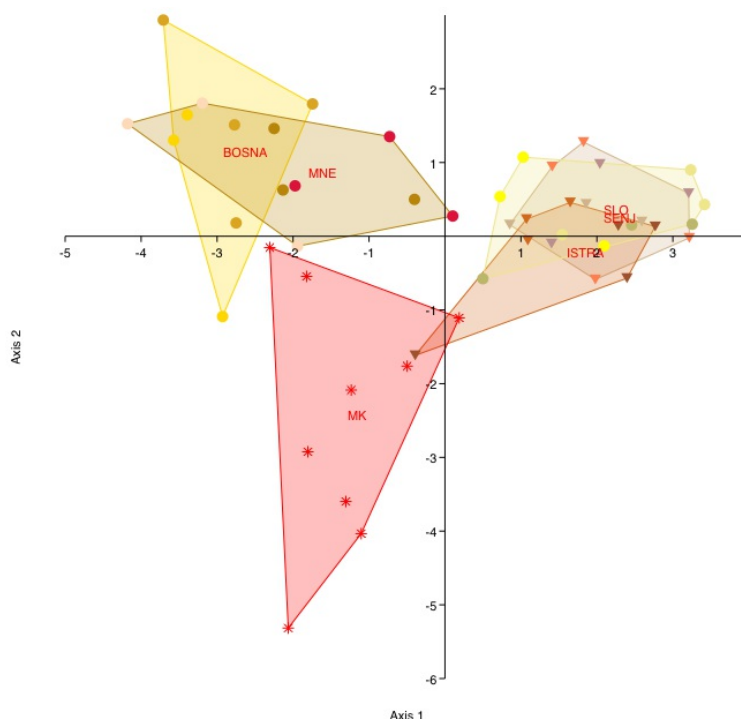
Kada se transformišu podaci ($\log(x+1)$) samo se podvrsta *pisidica* odvajaju jasnije od ostalih taksona. Slična situacija je sa transformisanim podacima kada su grupe populacije.

Slika 4.2.2.6. Scatter plot (DA) *S. montana*

a) sve podvrste; b) glavni vektori; c) sve populacije; d) glavni vektori; ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Zvornik; ● Neretva; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrino; * Galičica

U slučaju gde su grupe regije koje su dobijene na osnovu kvadriranih Mahalanobisovih distanci iz hijerarhijske klaster analize, samo jedna jedinka iz regije Istra izlazi iz populacije, dok se ostale lepo preklapaju sa ostalim regijama (Slika 4.2.2.7). Prva regija bi bila Alpsko-

Istarsko-Riječka (Crni vrh, Bovec, Divača, Vodnjan, Krk, Jadranovo, Zlobin i Sibinj), druga regija je Hercegovačko-Crnogorska i populacija Makarska (Zvornik, Neretva, Gacko, Mokrine) i treća regija je Makedonska gde je populacija Galičica kod ove regije dve jedinke vuku ka drugoj regiji jedna ka prvoj regiji. Ovi rezultati pokazuju da je ukrštanje između podvrsta jako izraženo.



Slika 4.2.2.7. Scatter plot (DA) regije prema HCA kvadriranim Mahalanobisovim distancama *S. montana*

SLO: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ISTR: ▽ Vodnjan; ▽ Krk; SENJ: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; BOSNA: ● Zvornik; ● Neretva; MNE: ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; MK: * Galičica

Bioklimatski podaci

Rezultati jednostavne linearne regresione analize (Tabela 4.2.2.6) sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom su pokazali da skoro ne postoji korelacija sa bioklimatskim podacima. Nijedan flavonoid nije bio u korelaciji sa nadmorskom visinom. 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe je pokazao negativnu korelaciju sa nekoliko temperaturnih parametara (BIO2, BIO3 i BIO7) a ND2 sa dva parametra vezana za padavine (BIO14 i BIO17). Ksantomikrol je pozitivno korelisan sa izotermalnošću (BIO3) a salvigenin sa razlikom najviše i najmanje temperature (BIO7). Međutim, i ovi rezultati mogu da budu posledica slučajnosti.

Mantelov i parcijalni Mantelov test su pokazali da nema korelacije između profila flavonoida i bioklimatskih podataka ($R < 0,6$, $P < 0,05$), još je manja korelacija kada se ukloni geografski region, čak se gubi i statistički značaj (Tabela 4.2.2.7). Test je, takođe, pokazao umerenu statistički značajnu korelaciju ($R = 0,6$, $P < 0,01$) geografskog regiona i flavonoida na oba seta distanci flavonoida (Euklidske i Gowerove distance). Ovako niska geografska korelacija govori o jakom protoku gena između populacija ili tek skorijoj izolaciji populacija. Uprkos velikoj varijabilnosti profila flavonoida između jedinki ne postoji selekcija hemotipova prema bioklimatskim parametrima.

Tabela 4.2.2.6. Test linearne korelacije površinskih flavonoida *S. montana* i bioklimatskih komponenti

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
ALT	-0.5	-0.3	-0.4	0.3	-0.4	0.3	0.6	0.4	0.0	0.5
BIO1	0.4	0.1	0.4	-0.2	0.3	-0.3	-0.5	-0.4	0.0	-0.4
BIO2	-0.7	-0.4	-0.5	0.4	-0.5	0.6	0.6	0.3	0.5	0.6
BIO3	-0.7	-0.5	-0.4	0.4	-0.5	0.5	0.6	0.4	0.3	0.5
BIO4	-0.2	-0.1	-0.4	0.0	-0.1	0.4	0.0	-0.1	0.6	0.2
BIO5	-0.1	0.0	-0.1	0.0	-0.1	0.2	0.0	-0.1	0.3	0.0
BIO6	0.5	0.2	0.5	-0.3	0.4	-0.4	-0.5	-0.4	-0.1	-0.5
BIO7	-0.6	-0.4	-0.5	0.3	-0.4	0.6	0.4	0.2	0.6	0.6
BIO8	0.4	0.3	0.2	-0.5	0.4	-0.2	-0.6	-0.3	0.0	-0.4
BIO9	-0.1	-0.2	0.2	0.2	-0.2	0.0	0.1	0.0	0.0	-0.1
BIO10	0.4	0.1	0.3	-0.2	0.2	-0.2	-0.4	-0.4	0.1	-0.3
BIO11	0.4	0.1	0.4	-0.2	0.2	-0.3	-0.4	-0.4	0.0	-0.4
BIO12	0.4	0.5	0.2	-0.1	0.5	-0.4	-0.5	-0.4	-0.1	-0.5
BIO13	0.3	0.2	0.3	0.0	0.3	-0.3	-0.3	-0.4	-0.1	-0.4
BIO14	0.5	0.6	-0.1	-0.2	0.4	-0.2	-0.5	-0.3	-0.2	-0.4
BIO15	-0.2	-0.3	0.3	0.2	-0.2	-0.1	0.2	0.0	0.0	0.0
BIO16	0.4	0.3	0.3	0.0	0.3	-0.3	-0.4	-0.4	-0.1	-0.4
BIO17	0.5	0.6	-0.1	-0.2	0.5	-0.3	-0.5	-0.3	-0.2	-0.4
BIO18	0.4	0.6	-0.1	-0.3	0.5	-0.3	-0.5	-0.3	-0.1	-0.4
BIO19	0.0	-0.1	0.2	0.2	-0.1	0.0	0.0	-0.2	0.1	-0.1

I-5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe; *II*-ND; *III*-Timonin; *IV*-5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon; *V*-5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon; *VI*-Cirzimaritin; *VII*-Ksantomikrol; *VIII*-8-metoksicirzileneol; *IX*-Salvigenin; *X*-Gardenin B; masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti veće od 0,6.

Tabela 4.2.2.7. Mantelov i parcijalni Mantelov test

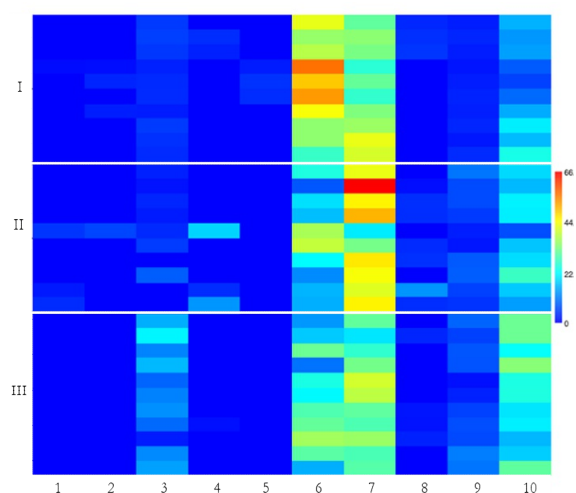
	Euklidske distance		Gowerove distance	
	R	P	R	P
FL+BIO	0.27	0.04	0.32	0.03
FL+BIO-Geo	0.05	0.32	0.10	0.22
FL+Geo	0.55	0.00	0.58	0.00

FL-profil površinskih flavonoida; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region

4.2.3. Varijabilnost površinskih flavonoida kod *Satureja kitaibelii*

Univarijantne analize

Matriks plot pokazuje odvajanje populacije Poganovo na osnovu 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon, a populacija Temšica se izdvaja na osnovu 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon i salvigenina (Slika 4.2.3.1). Cirzimaritin i ksantomikrol uz gardenin B su jedini flavonoidi koji imaju značajniju zastupljenost kod ove vrste.



Slika 4.2.3.1. Matriks plot *S. kitaibelii*
 I-Đerdap; II-Poganovo; III- Temšica; 1- ND; 2- Timonin, 3- 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon; 4- 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon; 5- 8-metoksicirziliol; 6- Cirzimaritin; 7- Ksantomikrol; 8- 8-metoksicirzilineol; 9- Salvigenin; 10- Gardenin B

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa 3 populacije vrste *Satureja kitaibelii* (Tabela 4.2.3.1). Analiza je pokazala značajno razlikovanje između sve tri populacije na osnovu 7 od 10 flavonoida. Međutim, konzervativnija *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$) je pokazala da kod svega 5 od tih 7 površinskih flavonoida postoji razlika između populacija. Populacija Temšica se od ostale dve populacije razlikuje na osnovu 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanona i gardenina B. Dok se populacija Đerdap od ostalih odvaja na osnovu cirzimaritina i salvigenina. Populacija Poganovo se od ostalih razlikuje samo po ksantomikrolu.

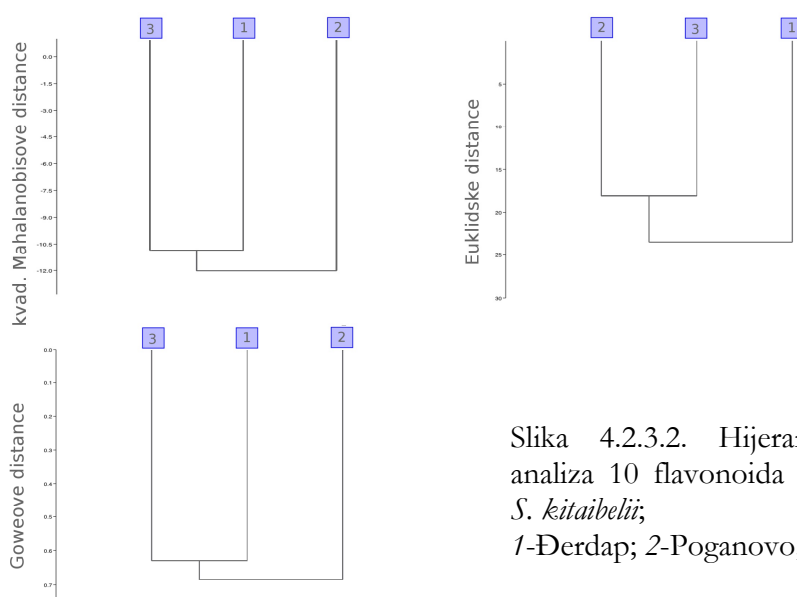
Tabela 4.2.3.1. Procentualna zastupljenost flavonoida prisutnih kod *S. kitaibelii*

	<i>F</i>	<i>P</i>	Đerdap n=10	Poganovo n=10	Temšica n=11
1 ND	3.3	*	0.1 ± 0.3 ^a	1.1 ± 1.8 ^a	- ^a
2 Timonin	0.9	-	0.7 ± 1.2 ^a	0.6 ± 1.9 ^a	- ^a
3 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	26.3	***	4.1 ± 1.0 ^a	2.7 ± 2.6 ^a	12.3 ± 4.8
4 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	2.3	-	0.7 ± 1.5 ^a	3.6 ± 6.7 ^a	0.1 ± 0.4 ^a
5 8-metoksicirziliol	3.8	**	1.1 ± 1.8 ^a	- ^a	- ^a
6 Cirzimaritin	14.2	***	41.7 ± 9.4	21.1 ± 10.3^a	23.7 ± 8.7^a
7 Ksantomikrol	6.9	***	33.5 ± 5.4^a	43.7 ± 11.9	31.2 ± 5.7^a
8 8-metoksicirzilineol	2.9	-	1.2 ± 2.0 ^a	3.4 ± 3.9 ^a	0.9 ± 1.3 ^a
9 Salvigenin	8.8	***	2.7 ± 0.6	5.9 ± 2.6 ^a	6.7 ± 2.9 ^a
10 Gardenin B	9.7	***	14.2 ± 5.7^a	18.0 ± 5.3^a	25.1 ± 6.2

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli flavonoida su dati kao srednja vrednost ± SD; tri najveće vrednosti su označene masnim slovima; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$; * $P = 0,05$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 10 površinskih flavonoida (Euklidske distance, Gowerove i kvadrirane Mahalanobisove distance) pokazuju formiranje dve grupe, (Slika 4.2.3.2). Kvadrirane Mahalanobisove i Gowerove distance izdvajaju populaciju Poganovo kao najrazličitiju dok su Temšica i Đerdap sličnije. Međutim, Euklidske distance izdvajaju Đerdap kao najrazličitiji a grupiše Temšicu i Poganovo.



Slika 4.2.3.2. Hijerarhijska klaster analiza 10 flavonoida kod populacija *S. kitaibelii*; 1-Đerdap; 2-Poganovo; 3-Temšica

Analiza glavnih komponenti (PCA)

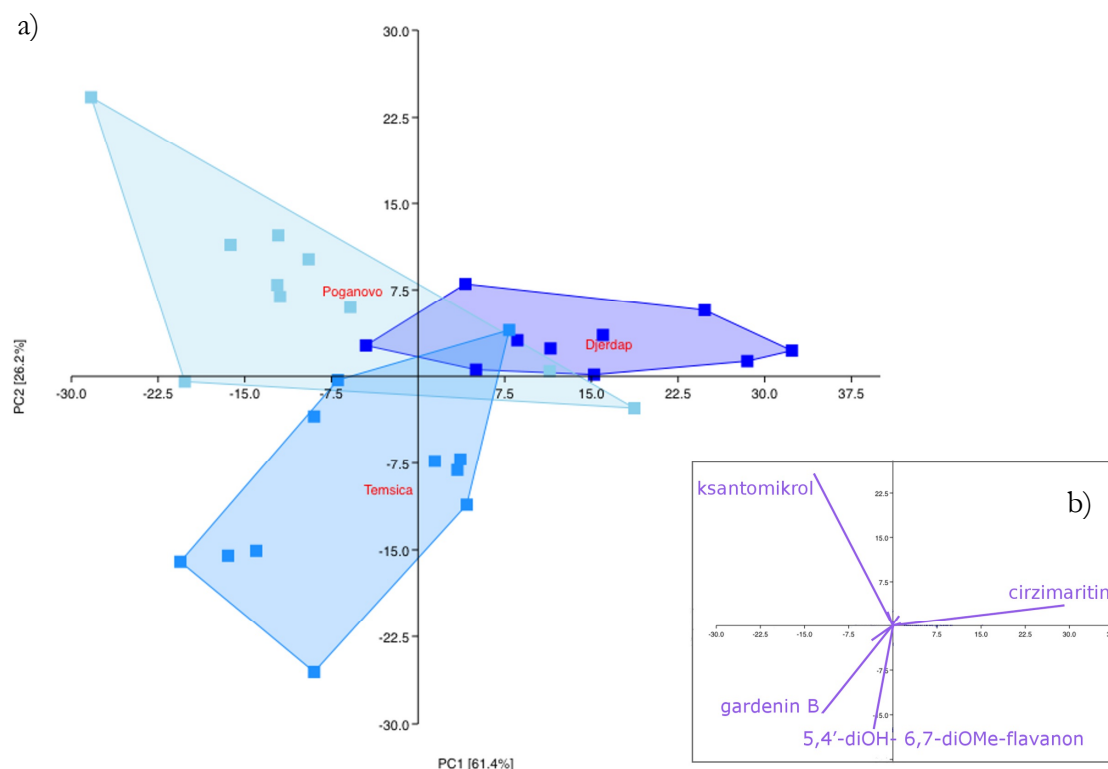
Varijabilnost sastava proučavanih 10 površinskih flavonoida kod 31 individa je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (Slika 4.2.3.3). Urađena je analiza sa svim podacima, prve dve ose ove analize sa svim podacima su objasnile 87,6 %. Četiri komponente (5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon, cirzimaritin, ksantomikrol i gardenin B) su zaslužne za odvajanje na prve dve ose. Ostale komponente minimalno doprinose diferencijaciji individua.

Tabela 4.2.3.3. Udeo 10 površinskih flavonoida u prva tri vektora

	PC 1	PC 2	PC 3
1 ND	0.01	0.02	-0.19
2 Timonin	0.04	0.00	-0.13
3 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	-0.09	-0.50	0.13
4 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	0.03	0.05	-0.73
5 8-metoksicirziliol	0.04	0.01	0.03
6 Cirzimaritin	0.84	0.10	0.35
7 Ksantomikrol	-0.39	0.74	0.33
8 8-metoksicirzilineol	-0.03	0.08	-0.17
9 Salvigenin	-0.10	-0.08	0.01
10 Gardenin B	-0.35	-0.43	0.37

Tabela 4.2.3.4. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, populacije *S. kitaibelii* su grupe

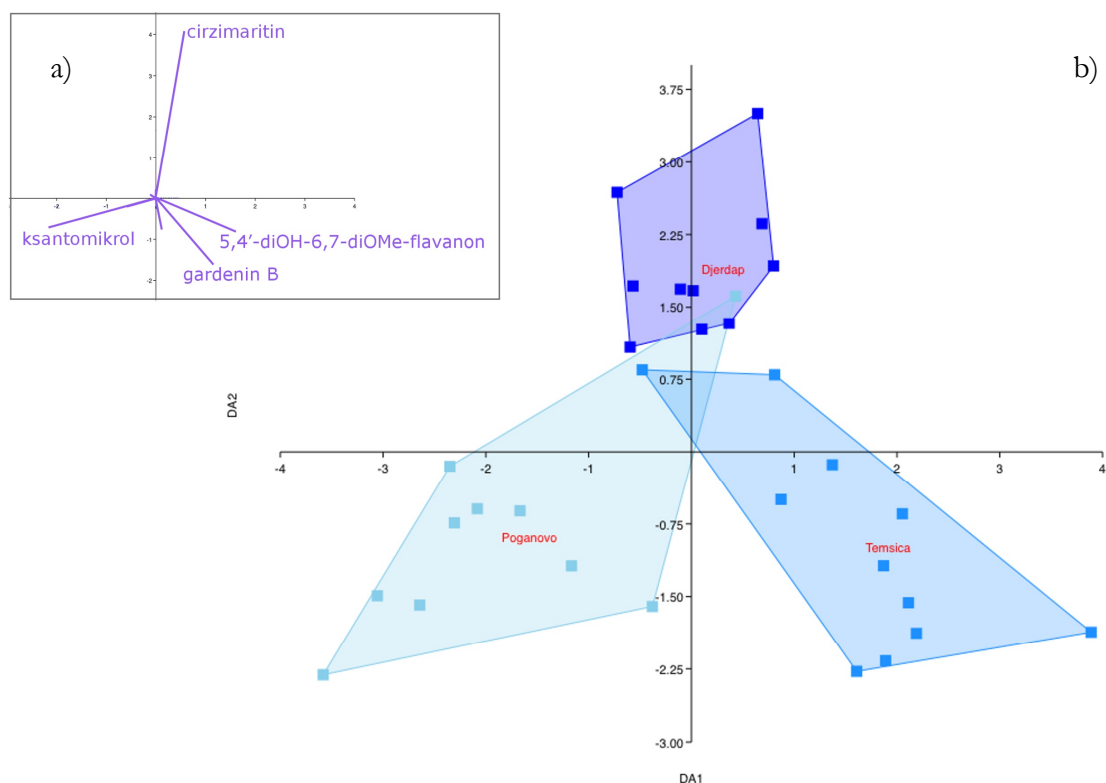
	Đerdap	Poganovo	Temšica	Σ
Đerdap	10	0	0	10
Poganovo	1	9	0	10
Temšica	2	0	9	11
Σ	13	9	9	31



Slika 4.2.3.3. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) svih 10 površinski flavonoida a) populacije *S. kitaibelii*; b) glavni vektori; ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo;

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava 54,5 %, dok druga objašnjava 45,5% ukupne varijabilnosti kada su u pitanju populacije *S. kitaibelii*. DA je pokazala nepotpunu diferencijaciju populacija (Slika 4.2.3.4). Urađene su DA sa svim i sa nekoreliranim podacima, pri čemu je jasnije odvajanje bilo kada su korišćeni svi podaci. Jedna individua iz populacije Poganovo i dve iz populacije Temšica ne mogu da se smeste u svoje grupe (Tabela 4.2.2.4). Ovi rezultati ukazuju da su populacije skorije odvojene ili da postoji i dalje protok gena.



Slika 4.2.3.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (DA)

a) glavni vektori; b) populacije *S. kitaibelii*; ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo;

Bioklimatski podaci

Linearna korelacija između bioklimatskih parametara i površinskih flavonoida pokazuje umerenu i statistički značajnu korelaciju između cirzimaritina i velike većine izmerenih parametara (Tabela 4.2.2.5). Takođe, 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon je u umerenoj negativnoj korelaciji sa nekoliko bioklimatskih parametara vezanih za temperaturu (BIO1, BIO5, BIO9 i BIO11). Korelacije koje se javljaju kod gardenina B i salvigenina su posledica visokih i umerenih korelacija sa 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanonom i cirzimaritinom.

Mantelov i parcijalni Mantelov test su pokazali da iako pojedine komponente pokazuju bioklimatsku zavisnost, ukupni profil nije korelisan sa svim bioklimatskim parametrima jer nijedna od ovih korelacija nije bila statistički značajna (Tabela 4.2.3.6). Ovo može biti posledica toga što je analizirano samo tri populacije, ali može ukazivati i na skoriju genetičku izolaciju ovih populacija.

Tabela 4.2.3.5. Test linearne korelacije površinskih flavonoida *S. kitaibelii* i bioklimatskih komponenti

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
ALT	0.2	-0.2	0.4	0.1	-0.5	-0.7	0.2	0.1	0.6	0.5
BIO1	0.1	0.2	-0.7	0.1	0.3	0.5	0.2	0.1	-0.5	-0.6
BIO2	0.3	0.0	-0.1	0.3	-0.4	-0.7	0.4	0.3	0.5	0.2
BIO3	0.4	0.0	-0.3	0.3	-0.3	-0.6	0.5	0.4	0.4	0.1
BIO4	-0.3	0.1	-0.1	-0.2	0.4	0.7	-0.3	-0.2	-0.6	-0.4
BIO5	0.1	0.2	-0.7	0.1	0.3	0.5	0.2	0.1	-0.5	-0.6
BIO6	0.0	0.2	-0.5	0.0	0.4	0.6	0.0	0.0	-0.6	-0.6
BIO7	0.4	0.0	-0.2	0.3	-0.4	-0.6	0.5	0.3	0.4	0.2
BIO8	-0.1	0.2	-0.4	-0.1	0.5	0.7	-0.1	-0.1	-0.6	-0.5
BIO9	0.4	0.2	-0.7	0.4	-0.1	-0.2	0.6	0.4	0.0	-0.3
BIO10	-0.1	0.2	-0.5	0.0	0.4	0.6	0.0	0.0	-0.6	-0.6
BIO11	0.4	0.1	-0.6	0.4	-0.1	-0.3	0.6	0.4	0.1	-0.2
BIO12	-0.3	0.1	0.0	-0.3	0.4	0.7	-0.4	-0.3	-0.5	-0.3
BIO13	-0.3	0.1	-0.2	-0.2	0.4	0.7	-0.3	-0.2	-0.6	-0.4
BIO14	-0.4	0.0	0.3	-0.3	0.3	0.5	-0.5	-0.4	-0.3	0.0
BIO15	-0.2	0.1	-0.2	-0.2	0.5	0.7	-0.3	-0.2	-0.6	-0.4
BIO16	-0.3	0.1	-0.1	-0.2	0.4	0.7	-0.3	-0.3	-0.5	-0.3
BIO17	-0.4	-0.1	0.5	-0.4	0.2	0.4	-0.6	-0.4	-0.2	0.1
BIO18	-0.3	0.1	-0.1	-0.2	0.4	0.7	-0.3	-0.2	-0.6	-0.4
BIO19	-0.4	0.0	0.3	-0.3	0.3	0.6	-0.5	-0.4	-0.3	0.0

I-ND; *II*-Timonin; *III*-5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon; *IV*-5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon; *V*-8-metoksicirziliol; *VI*-Cirzimaritin; *VII*-Ksantomikrol; *VIII*-8-metoksicirzilineol; *IX*-Salvigenin; *X*-Gardenin B; masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti veće od 0,6

Tabela 4.2.3.6. Mantelov i parcijalni Mantelov test

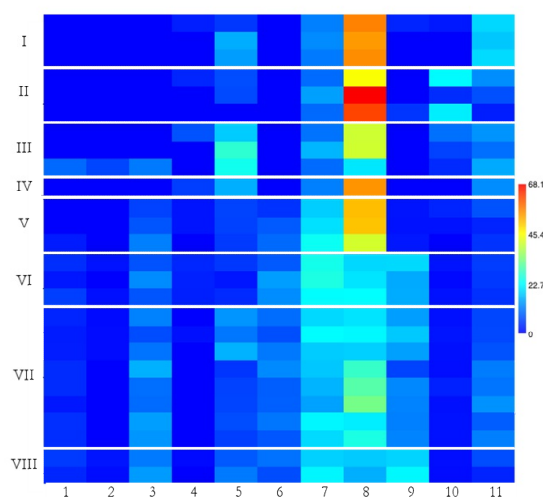
	Euklidske distance		Gowerove distance		Kvadrirane Mahalanobisove distance	
	R	P	R	P	R	P
FL+BIO	0.81	0.17	0.19	0.68	-0.28	0.67
FL+BIO-Geo	-1.00	0.50	1.00	0.33	1.00	0.50
FL+Geo	1.00	0.17	-0.35	0.67	-0.79	0.84

FL-profil površinskih flavonoida; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region

4.2.4. Varijabilnost površinskih flavonoida kod *Satureja subspicata*

Univarijantne analize

Matriks plot pokazuje da je dominantna komponenta u većini uzoraka sa velikom varijabilnošću ksantomikrol (Slika 4.2.4.1). Površinski flavonoidi 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe, ND (potencijalno timusin), 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon i delimično salvigenin imaju malu zastupljenost. Međutim, iako su slabo zastupljene u profilu flavonoida pokazale su se kao značajane na ANOVA, poput 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe. Takođe, jasno se vidi prelaz između podvrsta, dominantna komponenta kod populacija podvrste *liburnica* je ksantomikrol i u manjoj meri cirzimaritin, a kod populacija podvrste *subspicata* ima nekoliko kodominantnih komponenti.



Slika 4.2.4.1. Matriks plot *S. subspicata* I-Divača; II-Jadranovo; III-Zlobin; IV-Velebit; V-Đevrske; VI-Gacko; VII-Orjen; VIII-Nikšić; 1-5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe; 2-ND, 3-Timonin; 4-5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon; 5-5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon; 6-8-metoksicirziliol, 7-Cirzimaritin; 8-Ksantomikrol; 9-8-metoksicirzilinoel; 10-Salvigenin; 11-Gardenin B

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 7 populacija vrste *Satureja subspicata*, pri čemu četiri populacije pripadaju podvrsti *liburnica* (Divača, Jadranovo, Zlobin, Đevrske) a tri podvrsti *subspicata* (Gacko, Orjen i Nikšić) (Tabela 4.2.4.1). Analiza podvrsta je pokazala odvajanje na osnovu 6 od 11 flavonoida.

Tabela 4.2.4.1. Procentualna zastupljenost flavonoida prisutnih kod podvrsta *S. subspicata*

		<i>F</i>	<i>P</i>	ssp. <i>liburnica</i> n=13	ssp. <i>subspicata</i> n=13
1	5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	11.3	**	0.9 ± 2.6	3.6 ± 1.1
2	ND	0.2	-	0.5 ± 1.7	0.7 ± 0.7
3	Timonin	32.2	***	2.7 ± 4.5	11.1 ± 2.8
4	5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	1.2	-	1.7 ± 2.4	0.9 ± 1.3
5	5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	2.4	-	11.5 ± 8.2	7.6 ± 4.0
6	8-metoksicirziliol	51.1	***	1.7 ± 3.4	9.7 ± 2.3
7	Cirzimaritin	17.8	***	13.6 ± 4.6	20.2 ± 3.3
8	Ksantomikrol	55.5	***	49.4 ± 11.9	22.6 ± 5.1
9	8-metoksicirzilineol	117.7	***	1.0 ± 1.6	14.6 ± 4.2
10	Salvigenin	3.9	-	5.7 ± 7.7	1.5 ± 0.5
11	Gardenin B	3.7	-	11.1 ± 5.9	7.6 ± 3.0

ANOVA; Udeli flavonoida su dati kao srednja vrednost ± SD; najveće vrednosti su predstavljene masnim slovima; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

ANOVA sa populacijama je pokazala da je 8 od 11 komponenti značajno za njihovo razlikovanje (Tabela 4.2.4.2). Populacija Velebit nije korišćena u ovoj analizi jer je predstavljena samo sa jednim zbirnim uzorkom populacije. Urađena je i *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$). Pokazano je da se populacije koje pripadaju podvrsti *subspicata* najviše razlikuju. Populacije podvrste *subspicata* se međusobno razlikuju na osnovu 8-metoksicirzilineola, a od populacija podvrste *liburnica* na osnovu većine drugih flavonoida. Populacije podvrste *liburnica* se međusobno slabo diferenciraju. Razlikuju se na osnovu ksantomikrola i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavona (populacija Zlobin od ostalih) odnosno salvigenina i gardenina B (populacija Jadranovo od Divače). Populacija podvrste *liburnica* (Đevrske) je mnogo bliže populacijama podvrste *subspicata* i od njih se manje razlikuje, što je u skladu sa morfometrijskim podacima.

Tabela 4.2.4.2. Procentualna zastupljenost flavonoida kod svih populacija *S. subspicata*

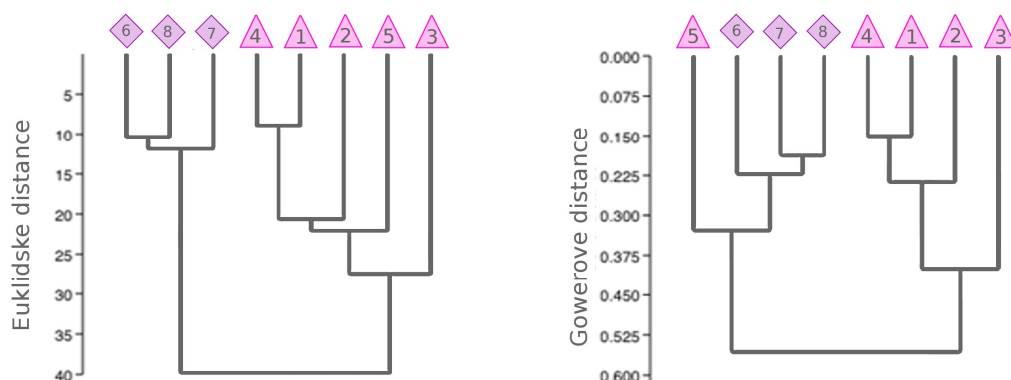
	<i>F</i>	<i>P</i>	Divača n=3	Jadranovo n=3	Zlobin n=3	Đevrske n=3	Gacko n=3	Orjen n=8	Nikšić n=2	Velebit ¹⁾ n=1
1 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	2.5	-	- ^a	- ^a	3.1 ± 5.4 ^a	0.8 ± 1.4 ^a	3.9 ± 1.8 ^a	3.3 ± 0.8 ^a	4.3 ± 1.1 ^a	-
2 ND	1.2	-	- ^a	- ^a	2.1 ± 3.6 ^a	- ^a	1.0 ± 0.9 ^a	0.4 ± 0.5 ^a	1.5 ± 0.5 ^a	-
3 Timonin	9.7	***	- ^w	- ^w	3.6 ± 6.3 ^w	8.3 ± 2.8^w	9.2 ± 2.8 ^w	11.4 ± 2.9 ^w	12.4 ± 2.1 ^w	-
4 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	1.4	-	0.9 ± 1.5 ^a	1.1 ± 1.9 ^a	2.5 ± 4.3 ^a	1.2 ± 1.0 ^a	3.0 ± 0.3 ^a	0.2 ± 0.5 ^a	0.4 ± 0.6 ^a	5.5
5 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	9.1	***	11.5 ± 5.7^a	4.4 ± 3.9 ^a	23.0 ± 4.4	5.6 ± 0.5 ^a	3.6 ± 1.6 ^a	8.6 ± 4.1 ^a	9.4 ± 2.2 ^a	15.6
6 8-metoksicirziliol	26.3	***	- ^a	- ^a	- ^a	7.3 ± 2.6 ^b	11.6 ± 3.1 ^b	9.4 ± 1.8 ^b	8.5 ± 2.3 ^b	-
7 Cirzimaritin	12.6	***	11.5 ± 0.7^{ab}	11.1 ± 2.7^{ab}	12.1 ± 3.6^w	20.6 ± 2.7^w	24.1 ± 1.4^w	18.7 ± 2.7^w	20.3 ± 2.3^w	11.3
8 Ksantomikrol	20.0	***	55.5 ± 1.1^{ac}	58.4 ± 12.0^{ac}	34.3 ± 11.8^{bcd}	47.8 ± 5.5^w	20.7 ± 1.7^{bd}	24.8 ± 5.2^{bd}	16.8 ± 1.7^{bd}	55.0
9 8-metoksicirzilneol	32.1	***	1.1 ± 1.9 ^a	1.6 ± 2.7 ^a	- ^a	1.8 ± 0.3 ^a	16.6 ± 2.4^w	12.4 ± 3.4^{bc}	20.5 ± 2.3^{bd}	-
10 Salvigenin	7.0	***	0.7 ± 1.3 ^a	15.9 ± 10.3^{bc}	6.6 ± 3.2 ^w	1.6 ± 1.6 ^a	1.4 ± 0.5 ^a	1.7 ± 0.5 ^a	1.1 ± 0.1 ^a	-
11 Gardenin B	10.9	***	18.8 ± 0.9^{ac}	7.5 ± 5.1 ^w	12.8 ± 2.7^w	5.0 ± 2.1 ^{bd}	4.9 ± 0.6 ^{bd}	9.3 ± 2.5 ^w	5.0 ± 2.6 ^{bd}	12.6

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); pri čemu ^w označava da se populacija nalazi u više od tri grupe; Udeli flavonoida su dati kao srednja vrednost ± SD; najveće vrednosti su obeležene masnim slovima, *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

¹⁾ Populacija Velebit je predstavljena jednim zbirnim uzorkom populacije

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 11 površinskih flavonoida (Slika 4.2.4.2.). Euklidske distance pokazuju formiranje dve grupe. U jednoj kladi su populacije podvrste *subspicata*, a u drugoj su populacije podvrste *liburnica*. Gowerove distance koje uzimaju varijabilnost flavonoida takođe, pokazuju dve veće grupe. Međutim, sada je populacija podvrste *liburnica*, Đevrske, u grupi sa populacijama podvrste *subspicata*, kao njima najudaljenija.



Slika 4.2.4.2. Hijerarhijska klaster analiza 11 površinskih flavonoida populacija *S. subspicata*
1-Divača; 2-Jadranovo; 3-Zlobin; 4-Velebit; 5- Đevrske; 6-Gacko; 7-Orjen; 8-Nikšić

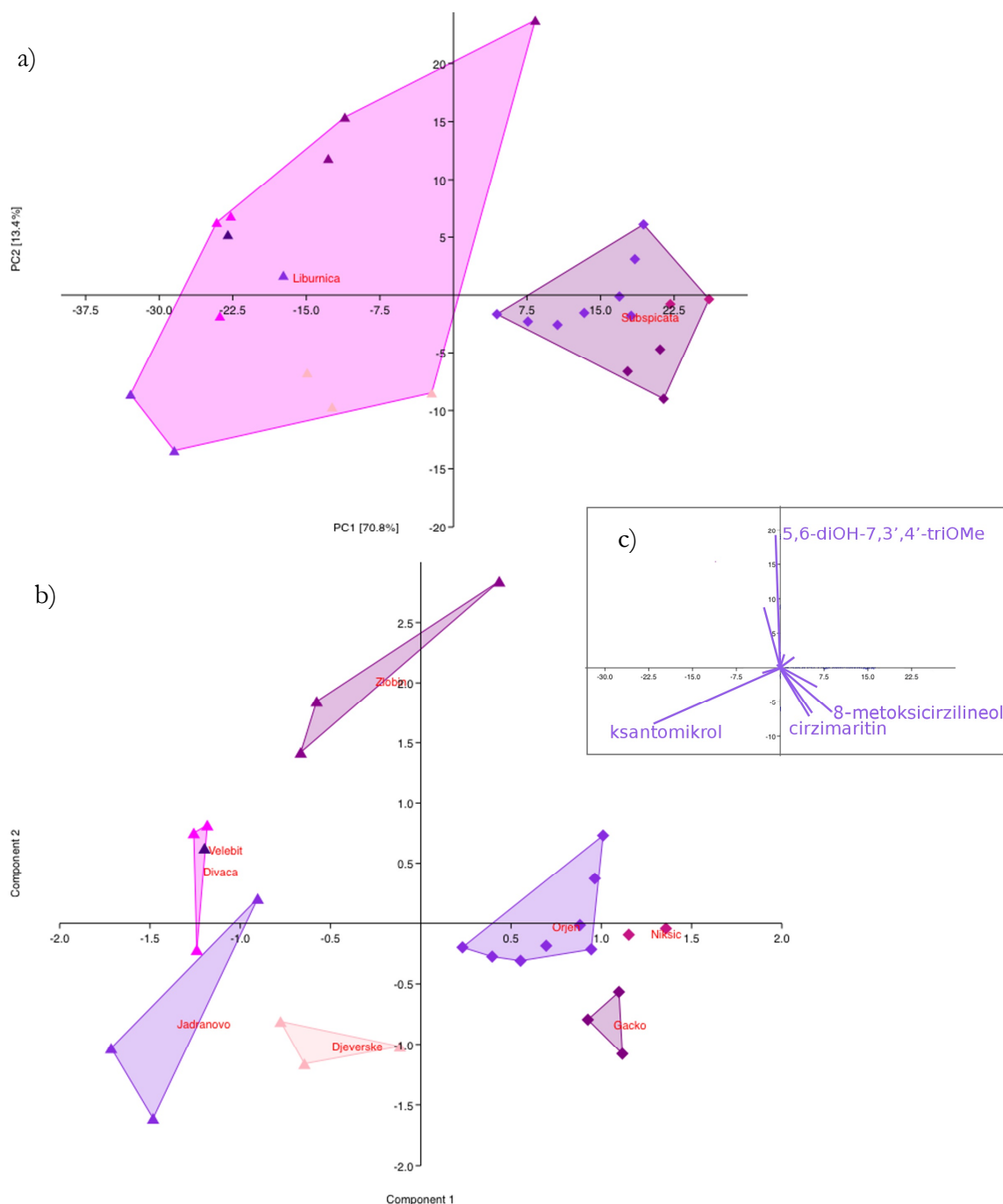
Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost sastava proučavanih 11 površinskih flavonoida kod 26 individua je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 84 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.2.4.3). Ova analiza je izdvojila 6 komponenti značajnih za razdvajanje jedinki. Međutim, od njih 6 samo su dve glavne, ksantomikrol i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon, preostale četiri doprinose u manjoj meri. Pomenute dve komponente, takođe, su i negativno međusobno korelisane. Jasno se razdvajaju dve podvrste *S. subspicata*, s tim da podvrsta *liburnica* pokazuje znatno veću varijabilnost od tipske podvrste. Populacije se međusobno lepo odvajaju. Varijabilnosti podvrste *liburnica* najviše doprinosi populacija Zlobin koja se i najviše odvaja od svih ostalih populacija, uključujući i populaciju Jadranovo kojoj je geografski najbliža. Populacija

Divača (Slovenija) se grupiše sa severnim Velebitom (Hrvatska). Kod podvrste *subspicata* nema značajnijeg odvajanja populacija.

Tabela 4.2.4.4. Udeo 11 površinskih flavonoida u prva tri vektora

	PC 1	PC 2	PC 3
1 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	0.09	0.06	0.00
2 ND	0.03	0.08	0.03
3 Timonin	0.25	-0.11	-0.18
4 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	-0.02	0.02	0.07
5 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	-0.03	0.74	-0.12
6 8-metoksicirziliol	0.21	-0.26	-0.17
7 Cirzimaritin	0.19	-0.28	-0.25
8 Ksantomikrol	-0.84	-0.32	-0.21
9 8-metoksicirzilioneol	0.34	-0.25	0.12
10 Salvigenin	-0.12	-0.03	0.88
11 Gardenin B	-0.11	0.35	-0.17

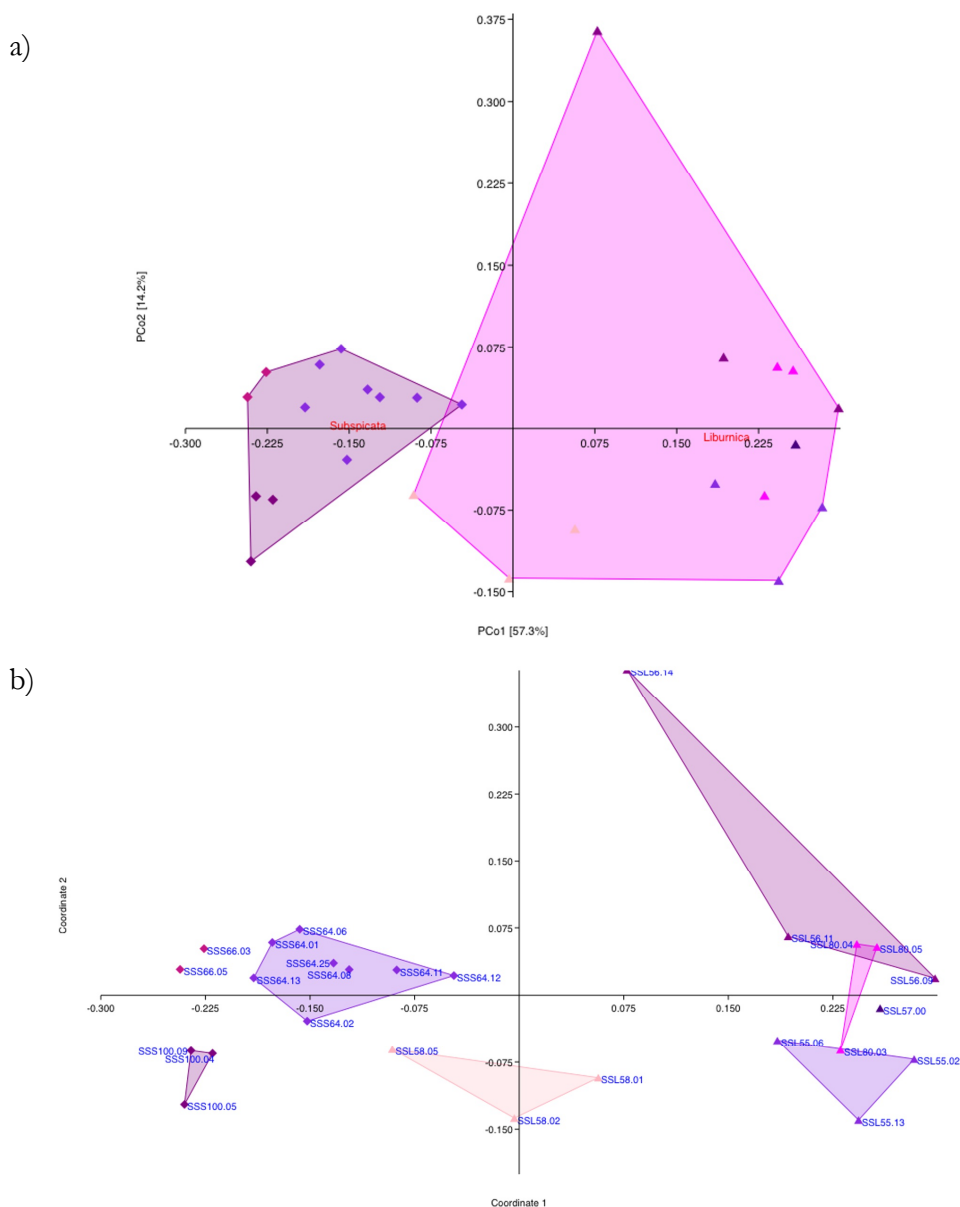


Slika 4.2.4.3. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

a) podvrste; b) populacije; c) aigenvektori;

▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ◆ Gacko; ◆ Orjen; ◆ Nikšić

PCoA analiza je pokazala slične rezultate kao i PCA, podvrste se minimalno preklapaju. Postoji nekoliko jedinki iz populacija podvrste *liburnica* koje se veoma razlikuju od ostalih iz te podvrste, a na ovoj nalizi su se još više približile populacijama podvrste *subspicata*. Jedinke iz populacije Đevrske se grupišu tačno na pola puta između populacija podvrsta *subspicata* i *liburnica*.



Slika 4.2.4.5. Scatter plot PCoA

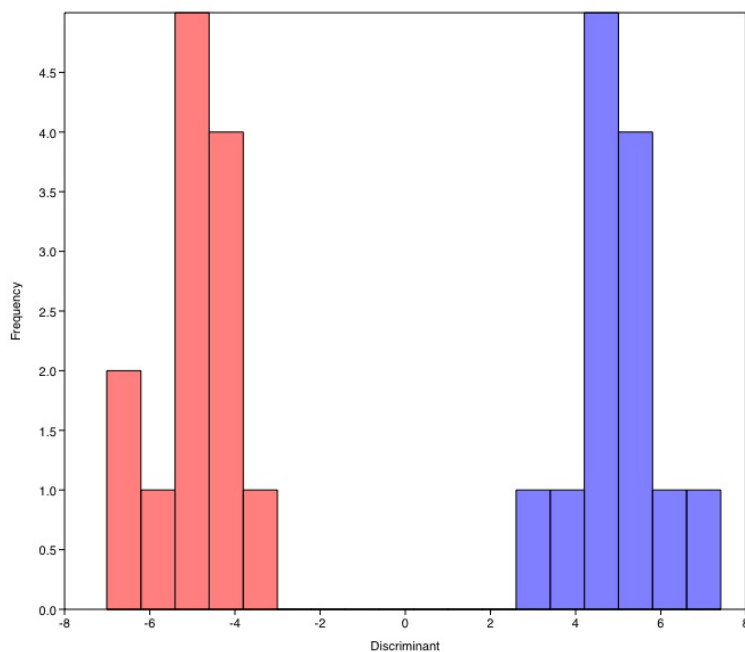
a) podvrste; b) populacije; ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ◆ Gacko; ◆ Orjen; ◆ Nikšić

Diskriminantna analiza (DA)

DA, gde su podvrste grupe (dve grupe), jasno odvaja podvrstu *liburnica* od podvrste *subspicata* (Slika 4.2.4.4). Nijedna jedinka ne izlazi iz svoje grupe u matrici konfuzije.

Diskriminantna analiza sa populacijama kao grupama je, takođe, jasno odvojila sve populacije (Slika 4.2.4.5). Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 84 % dok druga objašnjava 7,8 % ukupne varijabilnosti kada su u pitanju populacije. Matrica konfuzije pokazuje da nijedna jedinka ne izlazi iz dodeljene grupe (Tabela 4.2.4.5). Rezultati ukazuju

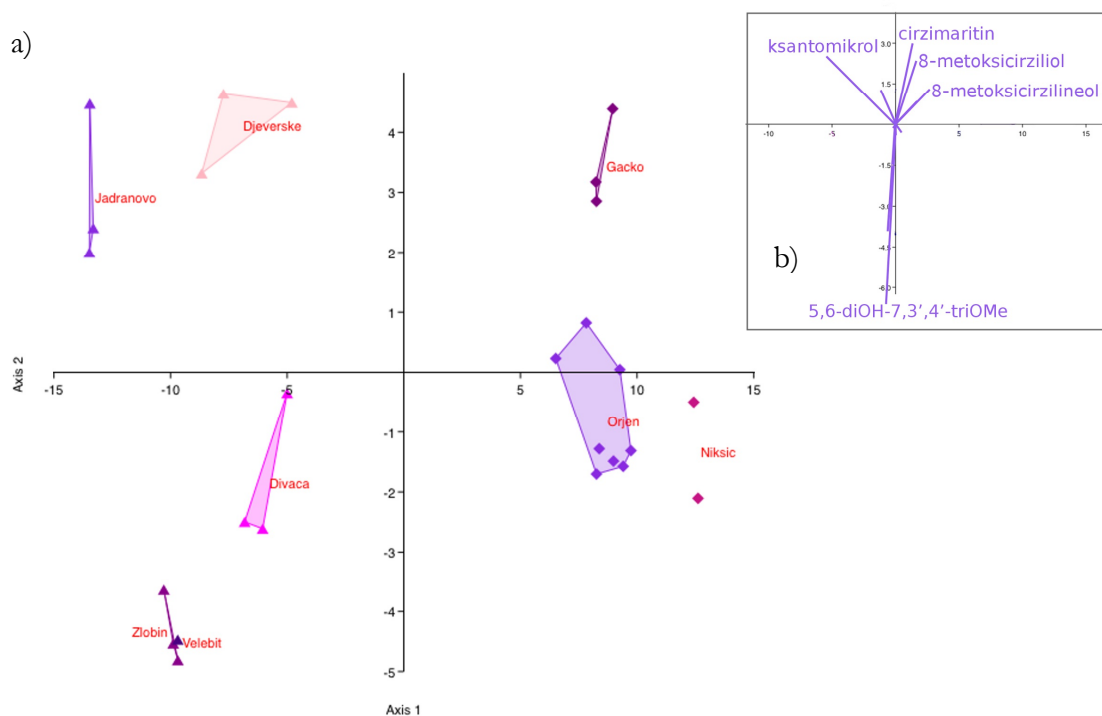
da na osnovu profila površinskih flavonoida kod *S. subspicata* možemo da razlikujemo populacije i podvrste, za razliku od *S. montana* koje je nemoguće diferencirati na populacionom nivou.



Slika 4.2.4.4. Histogram diskriminantne analize sa podvrstama *S. subspicata*; crvenom je označena podvrsta *subspicata*; plavom je označena podvrsta *liburnica*

Tabela 4.2.4.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, grupe su populacije.

	Divača	Jadranovo	Zlobin	Velebit	Đevrske	Gacko	Orjen	Nikšić	Σ
Divača	3	0	0	0	0	0	0	0	3
Jadranovo	0	3	0	0	0	0	0	0	3
Zlobin	0	0	3	0	0	0	0	0	3
Velebit	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Đevrske	0	0	0	0	3	0	0	0	3
Gacko	0	0	0	0	0	3	0	0	3
Orjen	0	0	0	0	0	0	8	0	8
Nikšić	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Σ	3	3	3	1	3	3	8	2	26



Slika 4.2.4.5. Scatter plot diskriminantne analize svih populacija

a) sve populacije; b) glavne komponente; ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Djeverske; ◆ Gacko; ◆ Orjen; ◆ Nikšić

Bioklimatski podaci

Rezultati jednostavne linearne regresione analize (Tabela 4.2.4.6) sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom su pokazali da postoji korelacija između većeg broja flavonoida i većeg broja bioklimatskih podataka. Nadmorska visina je bila u korelaciji sa većim brojem flavonoida; umerena pozitivna korelacija sa 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe, timoninom i 8-metoksicirziliolom, visoka negativna sa ksantomikrolom, dok je pozitivna sa 8-metoksicirzilineolom. U korelaciji sa temperaturom (BIO5, BIO6 i BIO8) su ksantomikrol i 8-metoksicirzilineol, ali suprotno nadmorskoj visini. Takođe, u korelaciji sa temperaturnim parametrima je veći broj flavonoida, posebno sa izotermalnošću (BIO3). Ksantomikrol je pokazao visoku statistički značajnu korelaciju sa većim brojem bioklimatskih parametara temperature i to srednjom godišnjom temperaturom, najvišom i najnižom temperaturom u najtoplijem tj. najhladnijem mesecu, srednjom temperaturom najvlažnijeg perioda, najtoplijeg i najhladnijeg perioda. Ovi parametri su korelisani sa

nadmorskom visinom. Timonin, 8-metoksicirziliol i cirzimaritin su visoko negativno korelisani sa parametrima vezanim za padavine i ponekim vezanim za temperaturu. Gardenin B je bio visoko korelisani sa padavinama u najvlažnijem periodu. Iako ima dosta korelacija, u pitanju su dve podvrste koje naseljavaju različita klimatska područja što može uticati na pojavu korelacija. Međutim, pošto su u pitanju opšti trendovi u temperaturi i padavinama, rezultati mogu ukazivati na selekciju hemotipova koji su prilagođeni datim nadmorskim visinama i lokalnim bioklimatskim uslovima.

Mantelov i parcijalni Mantelov test sa Euklidskim i Gowerovim distancama su pokazali da nema korelacije između flavonoida i bioklimatskih parametara (Tabela 4.2.4.7). Ovi rezultati su očekivani, budući da se svega dve populacije podvrste *liburnica* nalaze na većim nadmorskim visinama (do 1000 m.n.v.), dok su sve populacije podvrste *subspicata* na višim od 1000 m.n.v. Jedna statistički značajna korelacija na obe matrice je bila sa geografskom udaljenošću. Ovo ukazuje na to da su bliže populacije i genetički srodnije.

Tabela 4.2.4.6. Test linearne korelacije površinskih flavonoida i bioklimatskih komponenti

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
ALT	0.6	0.3	0.6	0.0	0.1	0.6	0.5	-0.9	0.7	-0.5	-0.2
BIO1	-0.5	-0.4	-0.3	-0.2	-0.3	-0.3	-0.2	0.7	-0.6	0.3	0.0
BIO2	0.1	-0.1	0.4	-0.1	-0.6	0.6	0.7	-0.2	0.3	-0.2	-0.7
BIO3	0.1	-0.2	0.6	-0.2	-0.6	0.7	0.7	-0.3	0.4	-0.3	-0.7
BIO4	-0.2	0.2	-0.5	0.4	0.4	-0.5	-0.2	0.4	-0.4	0.0	0.2
BIO5	-0.5	-0.3	-0.4	-0.1	-0.3	-0.4	-0.2	0.7	-0.6	0.3	-0.1
BIO6	-0.6	-0.4	-0.4	-0.2	-0.3	-0.4	-0.4	0.7	-0.6	0.4	0.1
BIO7	-0.1	0.1	0.1	0.2	-0.2	0.1	0.4	0.1	0.0	-0.1	-0.5
BIO8	-0.6	-0.4	-0.5	-0.2	-0.2	-0.4	-0.4	0.8	-0.6	0.2	0.3
BIO9	0.0	-0.3	0.3	-0.2	-0.7	0.5	0.4	0.0	0.3	0.1	-0.7
BIO10	-0.6	-0.4	-0.4	-0.2	-0.3	-0.4	-0.3	0.8	-0.6	0.4	0.0
BIO11	-0.5	-0.4	-0.3	-0.3	-0.4	-0.3	-0.3	0.7	-0.5	0.4	0.0
BIO12	0.1	0.2	-0.3	0.1	0.4	-0.4	-0.6	0.0	0.0	0.4	0.4
BIO13	0.1	0.0	0.1	-0.2	0.1	0.0	-0.3	-0.2	0.1	0.3	0.0
BIO14	-0.1	0.3	-0.6	0.4	0.5	-0.7	-0.6	0.3	-0.4	0.3	0.5
BIO15	0.0	-0.3	0.4	-0.4	-0.4	0.4	0.3	0.0	0.1	0.0	-0.4
BIO16	0.0	0.0	-0.2	-0.1	0.2	-0.3	-0.5	0.1	-0.1	0.5	0.2
BIO17	-0.1	0.3	-0.6	0.4	0.5	-0.7	-0.6	0.2	-0.3	0.4	0.4
BIO18	-0.2	0.2	-0.7	0.3	0.5	-0.7	-0.7	0.3	-0.4	0.2	0.6
BIO19	0.3	0.0	0.4	-0.2	-0.1	0.3	0.1	-0.5	0.5	0.1	-0.2

I-5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe, *II*-ND, *III*-Timonin, *IV*-5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon, *V*-5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon, *VI*-8-metoksicirziliol, *VII*-Cirzimaritin, *VIII*-Ksantomikrol, *IX*-8-metoksicirzilioneol, *X*-Salvigenin, *XI*-Gardenin B; masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti veće od 0,6.

Tabela 4.2.4.7. Rezultati Mantelovog i parcijalnog Mantelovog testa

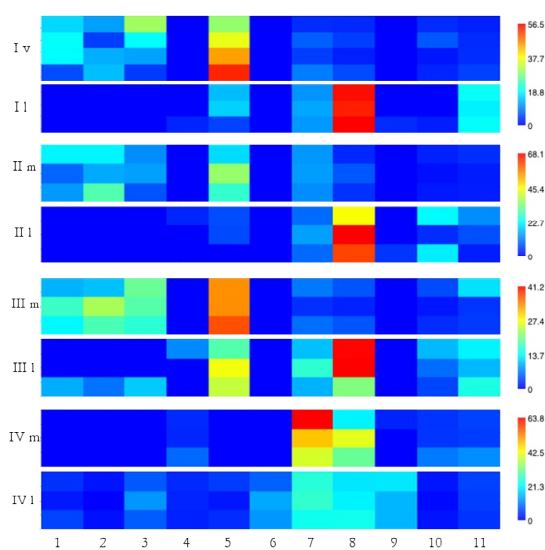
	Euklidske distance		Gowerove distance	
	R	P	R	P
FL+BIO	0.05	0.35	0.02	0.44
FL+BIO-Geo	0.00	0.44	-0.05	0.57
FL+Geo	0.80	0.01	0.79	0.01

FL-profil površinskih flavonoida; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region

4.2.5. Diferencijacija simpatrijskih populacija vrsta *S. montana* i *S. subspicata* na osnovu površinskih flavonoida

Univarijantne analize

Matriks plotovi za parove simpatrijskih populacija pokazuju jasno odvajanje vrsta na osnovu profila flavonoida (Slika 4.2.5.1). U prva dva para (Divača i Jadranovo), kod *S. montana* dominira 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon, dok kod *S. subspicata* dominira ksantomikrol. Slična situacija je i na lokalitetu Zlobin gde je, pored pomenutih flavonoida, u populaciji *S. subspicata* dosta zastupljen i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon. Jedino se populacije simpatrijskih vrsta na lokalitetu Gacko razlikuju od ostalih po profilu flavonoida. Kod populacija vrste *S. montana* dominiraju cirzimaritin i ksantomikrol, a kod populacija vrste *S. subspicata* nema dominantnih komponenti, već više njih ima slični udeo (cirzimaritin, ksantomikrol i 8-metoksicirzilineol).



Slika 4.2.5.1. Matriks plotovi simpatrijskih populacija
Divača: *variegata* (Iv) i *liburnica* (IIl);
Jadranovo: *montana* (IIIm) i *liburnica* (IIIs);
Zlobin: *montana* (IIIIm) i *liburnica* (IIIIs);
Gacko: *montana* (IVm) i *subspicata* (IVs);
1- 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe; 2- ND, 3- Timonin; 4- 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon; 5- 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon; 6- 8-metoksicirziliol, 7- Cirzimaritin; 8- Ksantomikrol; 9- 8-metoksicirzilineol; 10- Salvigenin; 11- Gardenin B

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 8 simpatrijskih populacija vrsta *Satureja montana* i *S. subspicata* (Tabela 4.2.5.1). Analiza je pronašla statistički značajnu razliku između populacija na osnovu 10 od 11 flavonoida. Populacije vrsta *S. montana* i *S. subspicata* koje rastu na lokalitetu Divača se statistički značajno odvajaju na 4 od 11 flavonoida (ND 2 - nepoznatog jedinjenja 2 (pretpostavka je da je u pitanju timusin), cirzimaritina, 8-metoksicirzilineola i salvigenina). Simpatrijske populacije sa lokaliteta Jadranovo se

razlikuju, takođe, na osnovu 4 flavonoida (timonina, cirzimaritina, 8-metoksicirzilina i gardenina B). Populacije koje rastu na lokalitetu Zlobin se razlikuju na osnovu 6 flavonoida (5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe, timonina, 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavona, cirzimaritina, salvigenina i gardenina B). Najviše razlika je na lokalitetu Gacko čak 7 od 11 (5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe, ND2, timonina, 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavona, ksantomikrola, salvigenina i gardenina B).

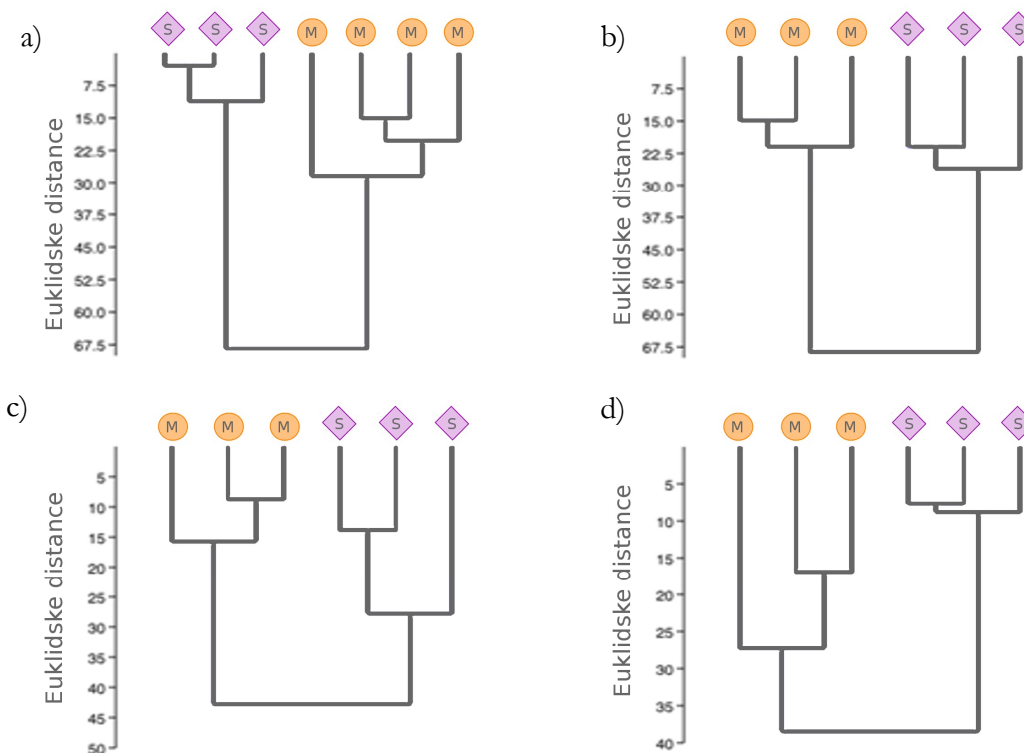
Tabela 4.2.5.1. Procentualna zastupljenost flavonoida kod simpatrijskih populacija *S. montana* i *S. subspicata*

	<i>F</i>	<i>P</i>	Divača		Jadranovo		Zlobin		Gacko	
			<i>S. montana</i> n=4	<i>S. subspicata</i> n=3	<i>S. montana</i> n=3	<i>S. subspicata</i> n=3	<i>S. montana</i> n=3	<i>S. subspicata</i> n=3	<i>S. montana</i> n=3	<i>S. subspicata</i> n=3
1 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	8.8	***	14.9 ± 6.3^a	- ^a	14.9 ± 6.5^a	- ^a	13.3 ± 3.6	3.1 ± 5.4	-	3.9 ± 1.8
2 ND	15.2	***	10.9 ± 4.3	-	22.3 ± 7.4^a	- ^a	17.0 ± 6.3^a	2.1 ± 3.6 ^a	-	1.0 ± 0.9
3 Timonin	6.0	***	16.5 ± 11.2^a	- ^a	11.4 ± 3.6	-	17.9 ± 1.7	3.6 ± 6.3	-	9.2 ± 2.8
4 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	2.5	-	- ^a	0.9 ± 1.5 ^a	- ^a	1.1 ± 1.9 ^a	- ^a	2.5 ± 4.3 ^a	5.1 ± 3.2 ^a	3.0 ± 0.3 ^a
5 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	22.0	***	41.1 ± 10.5^a	11.5 ± 5.7^a	27.6 ± 8.3^a	4.4 ± 3.9 ^a	34.6 ± 2.0	23.0 ± 4.4	-	3.6 ± 1.6
6 8-metoksicirziliol	44.1	***	-	-	-	-	-	-	- ^a	11.6 ± 3.1 ^a
7 Cirzimaritin	28.6	***	6.0 ± 2.7	11.5 ± 0.7	13.3 ± 0.6	11.1 ± 2.7	5.0 ± 2.2	12.1 ± 3.6	50.0 ± 12.6^a	24.1 ± 1.4^a
8 Ksantomikrol	33.4	***	3.8 ± 1.5 ^a	55.5 ± 1.1^a	5.2 ± 2.2 ^a	58.4 ± 12.0^a	3.6 ± 1.6 ^a	34.3 ± 11.8^a	30.1 ± 9.9	20.7 ± 1.7
9 8-metoksicirzilineol	43.2	***	-	1.1 ± 1.9	-	1.6 ± 2.7	-	-	1.0 ± 1.7 ^a	16.6 ± 2.4^a
10 Salvigenin	4.5	***	3.5 ± 2.1	0.7 ± 1.3	2.2 ± 0.8 ^a	15.9 ± 10.3^a	2.5 ± 1.4	6.6 ± 3.2	6.3 ± 3.4	1.4 ± 0.5
11 Gardenin B	9.4	***	3.4 ± 1.0 ^a	18.8 ± 0.9^a	3.0 ± 0.9	7.5 ± 5.1	6.0 ± 5.3	12.8 ± 2.7	7.5 ± 3.9	4.9 ± 0.6

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^a grupa je prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli flavonoida su dati kao srednja vrednost ± SD; najveće vrednosti su prikazane masnim slovima; *** $P < 0,01$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 11 površinskih flavonoida na osnovu Euklidske i Gowerove distance dale su manje više iste rezultate (Slika 4.2.5.2). Dendrogrami dobijeni na osnovu pomenutih distanci pokazuju odvajanje jedinki na dve grupe prema pripadnosti vrsti, na svim simpatrijskim lokalitetima, uz razliku u dužini grana.



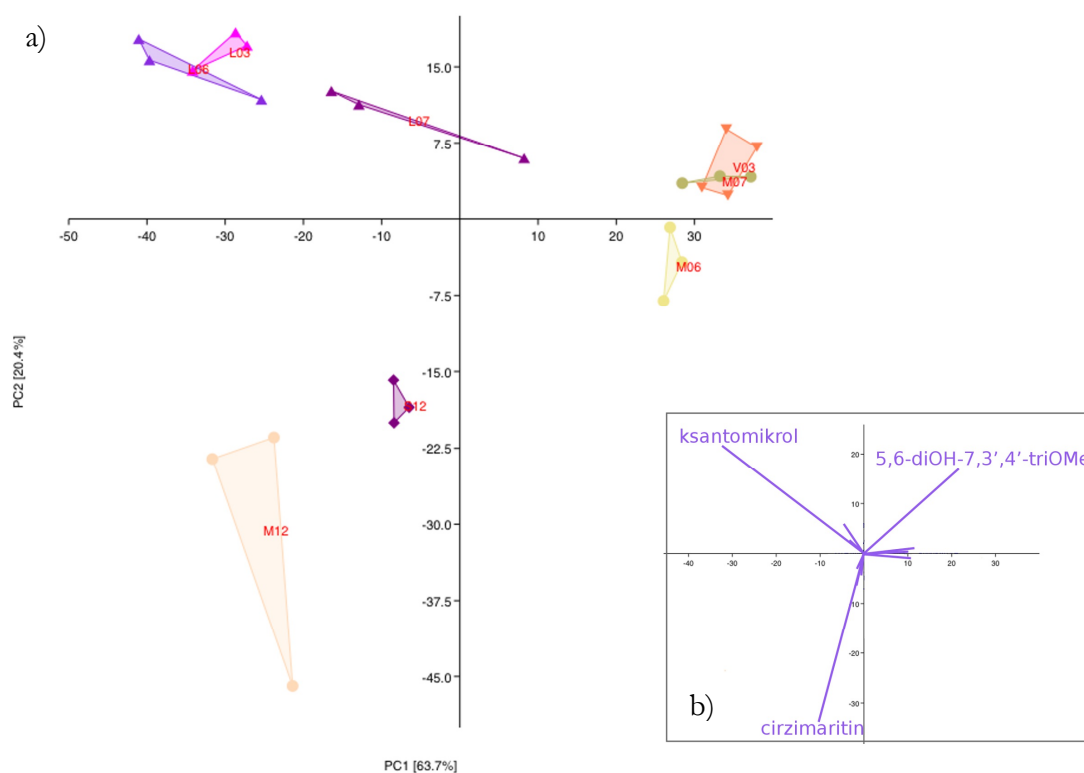
Slika 4.2.5.2. Hijerarhijska klaster analiza 11 površinskih flavonoida; Euklidske distance; *S-S. subspicata*; M- *S. montana*; a) Divača; b) Jadranovo; c) Zlobin; d) Gacko

Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost sastava proučavanih 11 površinskih flavonoida kod 25 jedinki iz 8 simpatrijskih populacija je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose objašnjavaju oko 84 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.2.5.3). PCA je izdvojila tri komponente koje razdvajaju ispitivane populacije (ksantomikrol, cirzimaritin i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon). Populacije koje žive zajedno na lokalitetu Divača najviše se odvajaju na prvoj osi na osnovu ksantomikrola i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavona. Slična situacija je i sa simpatrijskim populacijama Jadranovo i Zlobin. Ove dve komponente donekle važe i za odvajanje populacija sa lokaliteta Gacko, međutim, pored njih odvajanju vrsta doprinosi i cirzimaritin i to posebno iz jedne individue sa tog lokaliteta.

Tabela 4.2.5.2. Udeo 11 površinskih flavonoida u prva tri vektora analize glavnih komponenti

		PC 1	PC 2	PC 3
1	5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	0.23	0.01	0.16
2	ND	0.26	0.02	-0.03
3	Timonin	0.24	-0.02	0.39
4	5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	-0.04	-0.07	0.00
5	5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	0.48	0.38	-0.58
6	8-metoksicirziliol	-0.01	-0.10	0.28
7	Cirzimaritin	-0.23	-0.75	-0.48
8	Ksantomikrol	-0.72	0.48	-0.08
9	8-metoksicirzilinoel	-0.04	-0.15	0.39
10	Salvigenin	-0.08	0.06	0.06
11	Gardenin B	-0.10	0.13	-0.11

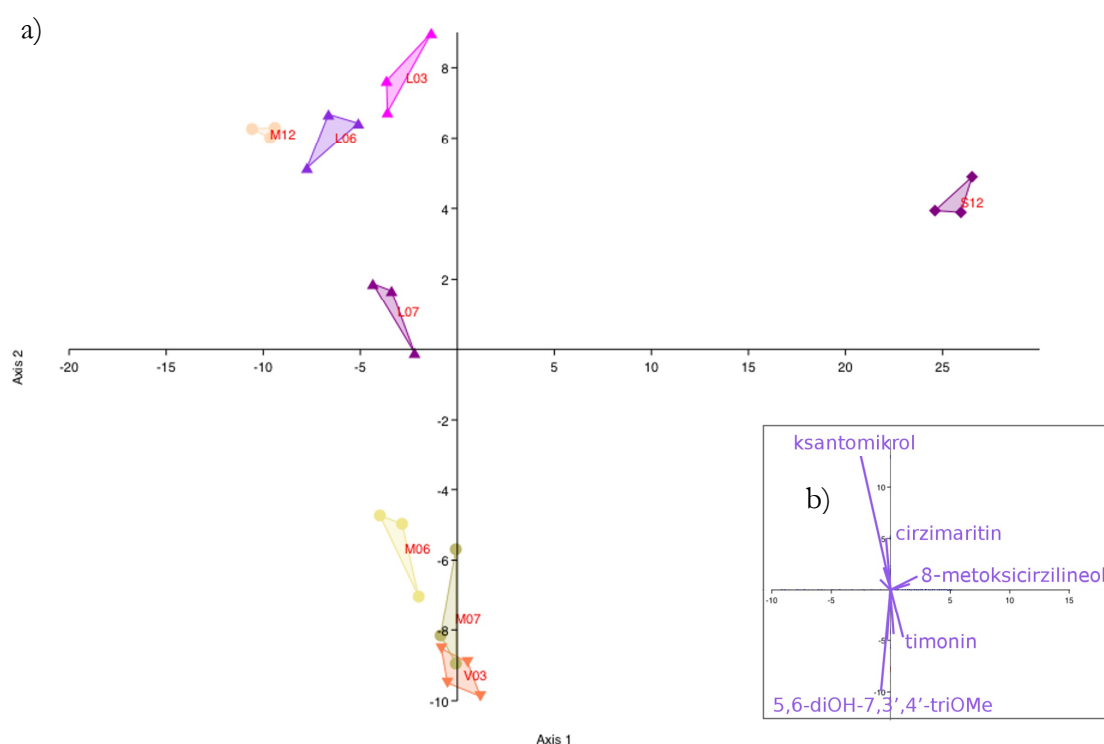


Slika 4.2.5.3. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) simetrijskih populacija a) populacije; b) glavne komponente populacije;

Divača: ▲ *S. subspicata* i ▼ *S. montana*; Jadranovo: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*;
 Zlobin: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*; Gacko: ◆ *S. subspicata* i ● *S. montana*

Diskriminantna analiza (DA)

Prva diskriminantna funkcija objašnjava 90,6 %, dok druga 7,5 % ukupne varijabilnosti kada su u pitanju populacije (Slika 4.2.5.4). DA sa simpatrijskim populacijama kao grupama je još više od PCA udaljila populacije, ali na osnovu nešto drugačijih komponenti. Kao i u prethodnoj analizi, dominiraju ksantomikrol i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon ali im se pridružuje timonin. Najviše su udaljene populacije sa lokaliteta Gacko, a najmanje lokalitet Zlobin.



Slika 4.2.5.4. Scatter plot diskriminatne analize svih simpatrijskih populacija

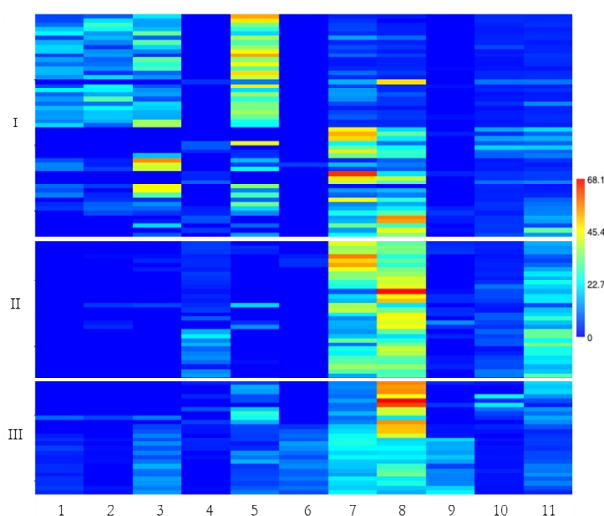
a) populacije; b) glavne komponente

Divača: ▲ *S. subspicata* i ▼ *S. montana*; Jadranovo: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*;
Zlobin: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*; Gacko: ◆ *S. subspicata* i ● *S. montana*

4.2.6. Diferencijacija svih proučavanih taksona na osnovu površinskih flavonoida

Univarijantne analize

Matriks plot jasno pokazuje razliku između vrsta (Slika 4.2.6.1). Kod svih vrsta dominiraju cirzimaritin i ksantomikrol, međutim pored pomenutih, kod vrste *S. montana* i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon ima veliki udeo, kod *S. kitaibelii* veliki udeo ima i gardenin B, a kod vrste *S. subspicata* ima više komponenti koje imaju sličan udeo.



Slika 4.2.6.1. Matriks plot sve tri vrste I-*S. montana*; II-*S. kitaibelii*; III-*S. subspicata*; 1- 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe; 2- ND, 3- Timonin; 4- 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon; 5- 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon; 6- 8-metoksicirziliol, 7- Cirzimaritin; 8- Ksantomikrol; 9- 8-metoksicirzileneol; 10- Salvigenin; 11- Gardenin B

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa sve tri vrste *S. montana*, *S. kitaibelii* i *S. subspicata* (Slika 4.2.6.1) i pronašla je razlike na osnovu 10 od 11 flavonoida. Komponente koje odvajaju ova tri taksona su timonin i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon, dok ostale komponente razlikuju jednu vrstu od druge dve. 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe, ND (potencijalno timusin), ksantomikrol odvajaju *S. montana* od druge dve vrste. 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon, cirzimaritin i gardenin B odvajaju *S. kitaibelii* od ostalih proučavanih vrsta. Vrsta *S. subspicata* se razlikuje od druge dve na osnovu 8-metoksicirziliola i 8-metoksicirzileneola.

Tabela 4.2.6.1. Procentualna zastupljenost flavonoida kod proučavanih vrsta roda *Satureja*

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>S. montana</i> n=51	<i>S. kitaibelii</i> n=31	<i>S. subspicata</i> n=26
1 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	25.5	***	7.9 ± 7.2	0.0 ± 0.0 ^a	2.2 ± 2.4 ^a
2 ND	24.5	***	8.6 ± 8.7	0.4 ± 1.1 ^a	0.6 ± 1.3 ^a
3 Timonin	21.4	***	15.7 ± 14.6	0.4 ± 1.3	6.9 ± 5.6
4 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	25.3	***	1.2 ± 2.5 ^a	6.6 ± 5.4	1.3 ± 2.0 ^a
5 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	31.6	***	23.0 ± 16.9	1.4 ± 4.1	9.5 ± 6.6
6 8-metoksicirziliol	46.0	***	0.1 ± 0.8 ^a	0.3 ± 1.1 ^a	5.7 ± 5.0
7 Cirzimaritin	8.7	***	16.7 ± 16.2^a	28.7 ± 13.0	16.9 ± 5.1^a
8 Ksantomikrol	30.5	***	14.8 ± 15.0	36.0 ± 9.6^a	36.0 ± 16.4^a
9 8-metoksicirzilineol	29.3	***	0.4 ± 1.0 ^a	1.8 ± 2.7 ^a	7.8 ± 7.6
10 Salvigenin	1.0	-	4.5 ± 3.7 ^a	5.2 ± 2.8 ^a	3.6 ± 5.8 ^a
11 Gardenin B	41.0	***	7.0 ± 5.8 ^a	19.3 ± 7.2	9.4 ± 4.9 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli flavonoida su dati kao srednja vrednost ± SD; najveće vrednosti su prikazane masnim slovima; *** $P < 0,01$

ANOVA sa taksonima kao grupama razlikuje sve taksone na osnovu svih flavonoida. Urađena je i *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$). Ova dodatna analiza na osnovu komponente ND (pretpostavka je da je u pitanju timusin) razlikuje podvrste *S. montana* ssp. *variegata* i ssp. *montana*, međusobno i između ostalih taksona. Ksantomikrol odvaja podvrstu *S. subspicata* ssp. *liburnica* od ostalih taksona. Ostali se grupišu u dve grupe u jednoj su pomenute podvrste *S. montana*, ssp. *variegata* i ssp. *montana*, koje se grupišu sa *S. subspicata* ssp. *subspicata*, dok su u drugoj podvrste *S. montana* ssp. *pisidica* i vrsta *S. kitaibelii*. 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon odvaja podvrstu *S. montana* ssp. *variegata* od svih ostalih taksona. Podvrsta *S. subspicata* ssp. *subspicata* se razlikuje od svih ostalih na osnovu 8-metoksicirziliola i 8-metoksicirzilineola. Pored njih i salvigenin doprinosi razlikovanju od podvrste *S. subspicata* ssp. *liburnica*.

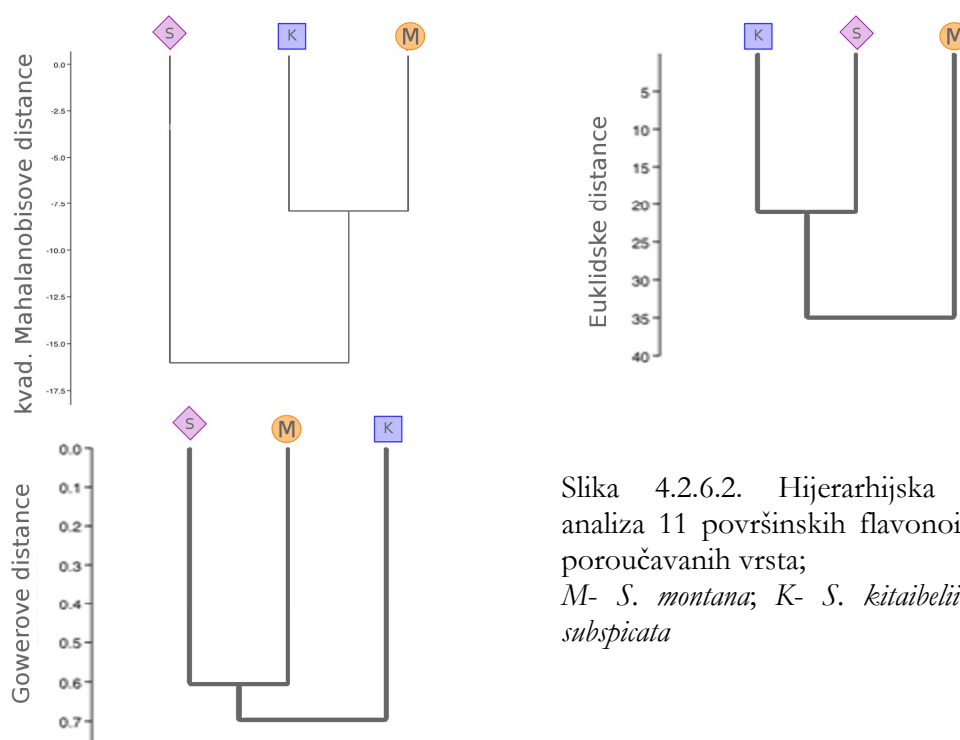
Tabela 4.2.6.2. Procentualna zastupljenost flavonoida kod svi proučavanih taksona roda *Satureja*

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>S. montana</i> ssp. <i>variegata</i> n=17	<i>S. montana</i> ssp. <i>montana</i> n=25	<i>S. montana</i> ssp. <i>pisidica</i> n=9	<i>S. kitaibelii</i> n=31	<i>S. subspicata</i> ssp. <i>liburnica</i> n=13	<i>S. subspicata</i> ssp. <i>subspicata</i> n=13
1 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	21.8	***	12.0 ± 6.3^{ab}	7.5 ± 7.1 ^{abd}	1.0 ± 1.9 ^{cd}	– ^{cd}	0.9 ± 2.6 ^{cd}	3.6 ± 1.1 ^{bcd}
2 ND	16.9	***	13.7 ± 7.5^a	7.2 ± 9.1 ^{bc}	3.2 ± 4.0 ^{bcd}	0.4 ± 1.1 ^{cd}	0.5 ± 1.7 ^{cd}	0.7 ± 0.7 ^{cd}
3 Timonin	12.1	***	17.0 ± 9.9^{abce}	18.0 ± 18.0^{abe}	6.7 ± 6.4 ^{acde}	0.4 ± 1.3 ^{cd}	2.7 ± 4.5 ^{cde}	11.1 ± 2.8 ^{abce}
4 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	10.9	***	0.3 ± 1.1 ^a	1.4 ± 2.8 ^a	2.8 ± 3.1 ^a	6.6 ± 5.4	1.7 ± 2.4 ^a	0.9 ± 1.3 ^a
5 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	31.3	***	37.6 ± 11.7	17.5 ± 15.0^a	10.8 ± 10.9 ^{ab}	1.4 ± 4.1 ^b	11.5 ± 8.2^{ab}	7.6 ± 4.0 ^{ab}
6 8-metoksicirziliol	79.0	***	– ^a	0.2 ± 1.1 ^a	– ^a	0.3 ± 1.1 ^a	1.7 ± 3.4 ^a	9.7 ± 2.3
7 Cirzimaritin	8.2	***	6.1 ± 4.1 ^{ad}	22.1 ± 19.4^{bcd}	21.9 ± 10.6^{bcd}	28.7 ± 13.0^{bc}	13.6 ± 4.6^{abd}	20.2 ± 3.3^{bcd}
8 Ksantomikrol	38.9	***	6.1 ± 11.0 ^a	13.7 ± 11.1 ^{ab}	34.4 ± 14.0^c	36.0 ± 9.6^c	49.4 ± 11.9	22.6 ± 5.1^b
9 8-metoksicirzilinoel	86.8	***	0.1 ± 0.4 ^a	0.3 ± 0.8 ^a	1.5 ± 1.7 ^a	1.8 ± 2.7 ^a	1.0 ± 1.6 ^a	14.6 ± 4.2
10 Salvigenin	2.5	**	3.3 ± 2.1 ^{ab}	5.3 ± 4.8 ^{ab}	4.3 ± 1.1 ^{ab}	5.2 ± 2.8 ^{ab}	5.7 ± 7.7 ^a	1.5 ± 0.5 ^b
11 Gardenin B	23.1	***	3.8 ± 1.9 ^{ab}	6.8 ± 5.3 ^{abc}	13.5 ± 7.2^{cde}	19.3 ± 7.2^{cd}	11.1 ± 5.9^{bce}	7.6 ± 3.0 ^{abc}

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli flavonoida su dati kao srednja vrednost ± SD; najveće vrednosti su prikazane masnim slovima; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

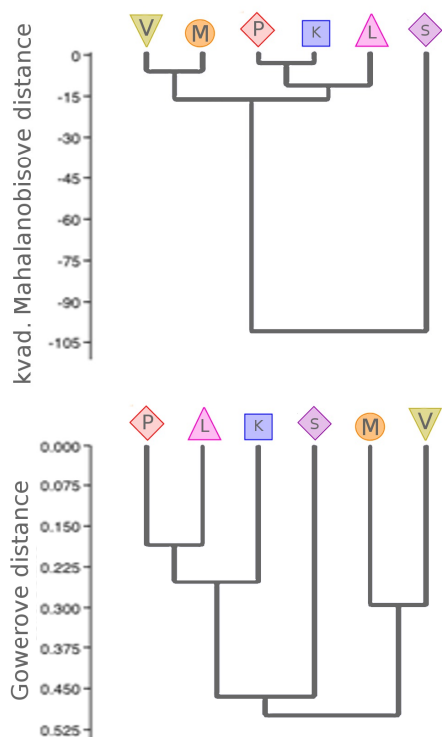
Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 11 površinskih flavonoida pomoću kvadriranih Mahalanobisovih, Euklidskih i Gowerovih distanci (Slika 4.2.6.2). Kvadrirane Mahalanobisove distance ukazuju da su *S. montana* i *S. kitaibelii* sličnije po profilima flavonoida, dok se *S. subspicata* izdvaja. Euklidske distance spajaju *S. kitaibelii* i *S. subspicata*, međutim, na osnovu Gowerovih distanci, sličnije su *S. montana* i *S. subspicata*.



Slika 4.2.6.2. Hijerarhijska klaster analiza 11 površinskih flavonoida kod poručavanih vrsta; M- *S. montana*; K- *S. kitaibelii*; S- *S. subspicata*

HCA sa taksonima i kvadriranim Mahalanobisovim distancama pokazuje da je najrazličitija podvrsta *S. subspicata* ssp. *subspicata*. *S. montana* ssp. *montana* i ssp. *variegata* su slične, njima slične su *S. montana* ssp. *pisidica*, *S. kitaibelii* i *S. subspicata* ssp. *liburnica* (Slika 4.2.6.3). Euklidske i Gowerove distance su grupisale taksone na različite načine. Euklidske distance su izdvojile *S. montana* ssp. *variegata* kao najrazličitiju od svih ostalih pa su u jednoj grani *S. montana* ssp. *montana* i *S. subspicata* ssp. *subspicata* kao slične a sve ostale iz tri različita taksona je svrstao u grupu kao i kvadrirane Mahalanobisove distance. Gowerove distance su izdvojile u jednu kladu *S. montana* ssp. *montana* i ssp. *variegata*, dok se druga deli na dve: sa jedne strane se nalazi *S. subspicata* ssp. *subspicata* a sa druge ona koja se javlja i na prethodne dve analize (*S. montana* ssp. *pisidica*, *S. kitaibelii* i *S. subspicata* ssp. *liburnica*). Ovi rezultati

ukazuju da je razlika između dve podvrste *S. subspicata* toliko velika da se podvrsta *liburnica* pre grupiše sa *S. kitaibelii* i *S. montana* ssp. *pisidica*, nego sa ssp. *subspicata*.



Slika 4.2.6.3. Hijerarhijska klaster analiza 11 površinskih flavonoida kod poručavanih podvrsta; M- *S. montana* ssp. *montana*; V- *S. montana* ssp. *variegata*; P- *S. montana* ssp. *pisidica*; K-*S. kitaibelii*; S- *S. subspicata* ssp. *subspicata*; L- *S. subspicata* ssp. *liburnica*

Analiza glavnih komponenti (PCA)

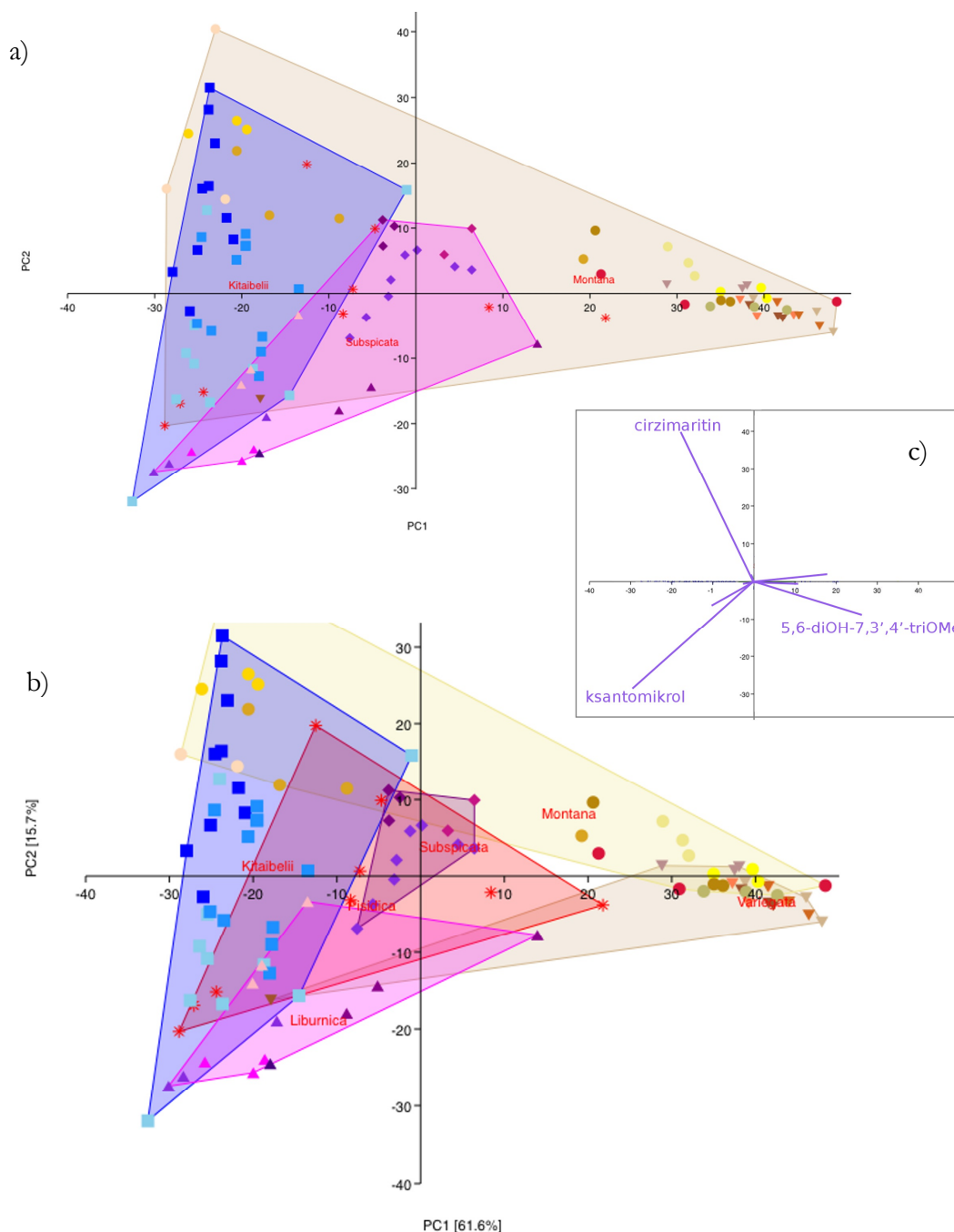
Tabela 4.2.6.3. Udeo 11 površinskih flavonoida u prva tri vektora analize glavnih komponenti

		PC 1	PC 2	PC 3
1	5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe	0.20	0.00	0.08
2	ND	0.21	-0.01	-0.22
3	Timonin	0.35	0.04	0.75
4	5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon	-0.07	0.00	-0.06
5	5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon	0.52	-0.18	-0.55
6	8-metoksicirziliol	-0.01	0.04	0.13
7	Cirzimaritin	-0.35	0.79	-0.16
8	Ksantomikrol	-0.58	-0.57	0.04
9	8-metoksicirzilineol	-0.02	0.03	0.14
10	Salvigenin	-0.05	-0.02	-0.06
11	Gardenin B	-0.20	-0.13	-0.10

Analiza glavnih komponenti kod 108 individua je ukazala na 3 površinska flavonoida koji bitno utiču na diferencijaciju individua (cirzimaritin, ksantomikrol i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon, Tabela 4.2.6.3). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 77.3 % ukupne varijabilnosti

(Slika 4.2.6.4). *S. montana* ima najveću varijabilnost, toliko veliku da pokriva sve ostale vrste. Kada su u pitanju taksoni, podvrste *S. montana* imaju veliku varijabilnost, a posebno ssp.

montana. *S. subspicata* ssp. *subspicata* i ssp. *liburnica*, se odvajaju uz veoma malo preklapanje, dok se *S. kitaibelii* izdvaja od njih.



Slika 4.2.6.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

a) vrste b) svi taksoni; c) glavne komponente;

***S. montana*: ssp. *variegata*:** ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk;
ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Zvornik; ● Neretva; ● Makarska;
 ● Gacko; ● Mokrine; **ssp. *pisidica*:** * Galičica; ***S. kitaibelii*:** ■ Đerdap; ■ Temšica;
 ■ Poganovo; ***S. subspicata*: ssp. *liburnica*:** ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit;
 ▲ Đevrske; **ssp. *subspicata*:** ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Nikšić

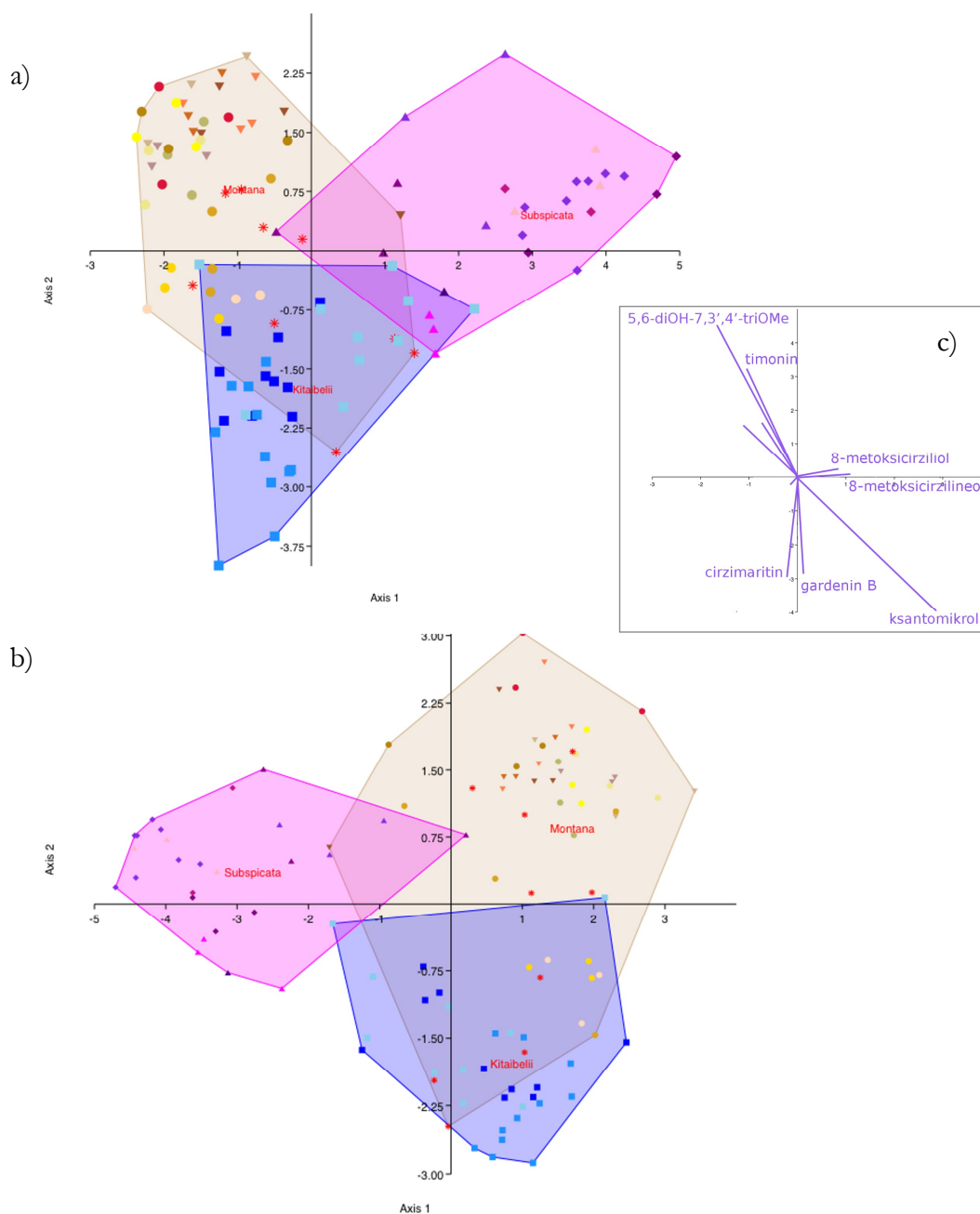
Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava 71,6 %, dok druga objašnjava 17,3% ukupne varijabilnosti kada su u pitanju vrste (Slika 4.2.6.5). DA analiza pokazuje delimično preklapanje sve tri vrste, pri čemu je veće preklapanje između vrsta *S. montana* i *S. kitaibelii*. Međutim, postoji određeno grupisanje unutar svake obojene konture vrste i to više prema podvrstama (simboli) nego prema lokalitetima (boje simbola). Glavne komponente za odvajanje vrsta su ksantomikrol i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon. Iste rezultate su dali i transformisani podaci, sa istom raspodelom jedinki unutar “oblačića”.

Matrica konfuzije pokazuje da 8 jedinki *S. montana*, 4 jedinke *S. kitaibelii* i 2 *S. subspicata* izlaze iz svojih dodeljenih grupa (Tabela 4.2.6.4).

Tabela 4.2.6.4. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, vrste su grupe.

	<i>S. montana</i>	<i>S. kitaibelii</i>	<i>S. subspicata</i>	Σ
<i>S. montana</i>	43	7	1	51
<i>S. kitaibelii</i>	1	27	3	31
<i>S. subspicata</i>	1	1	24	26
Σ	45	35	28	108



Slika 4.2.6.5. Scatter plot diskriminantne analize (DA)

a) vrste; b) transformisani podaci vrste; c) glavne komponente;

S. montana: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibirj; ● Zvornik; ● Neretva; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica***S. kitaibelii***: ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo;***S. subspicata***: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Nikšić

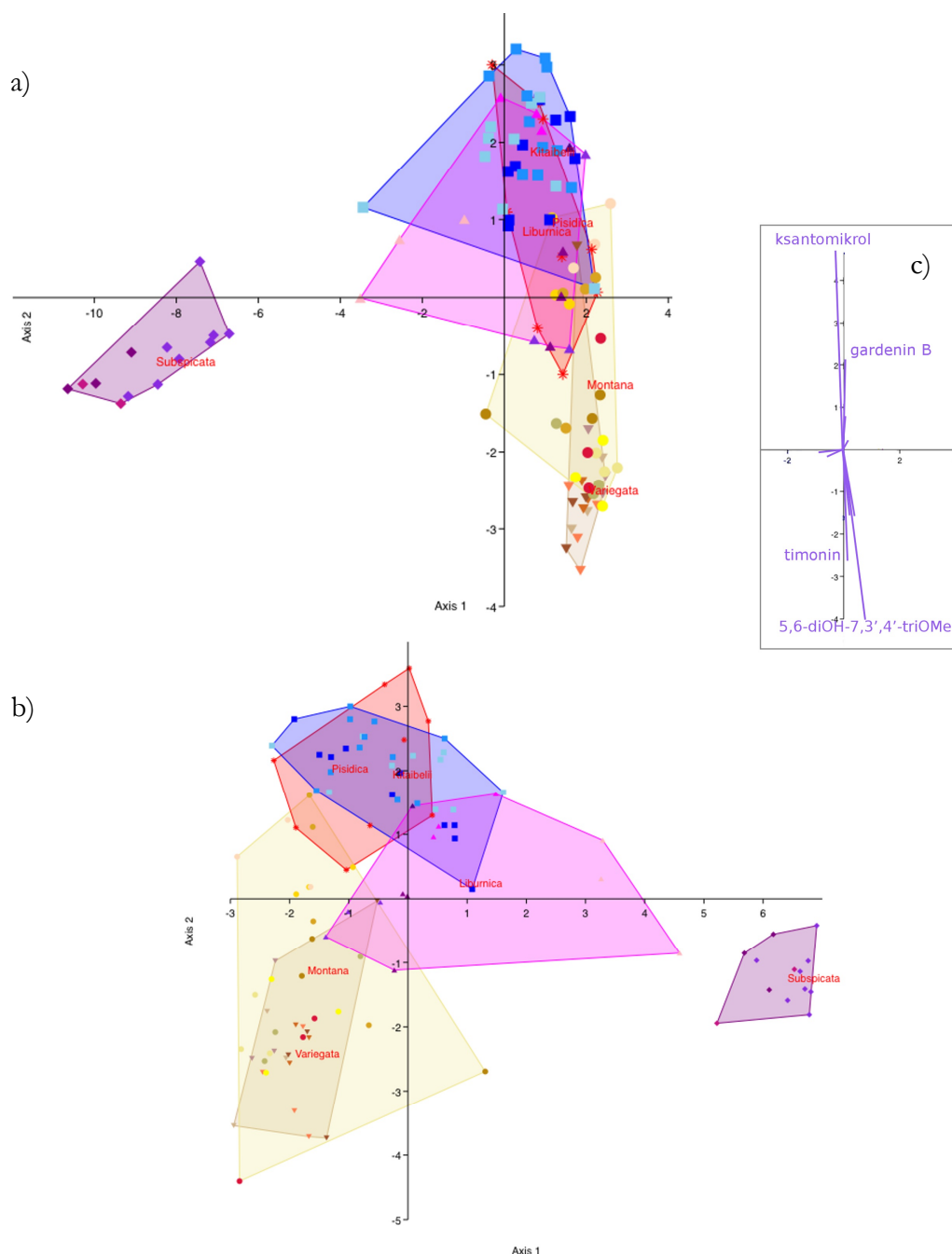
DA sa taksonima kao grupama jako odvaja podvrstu *S. subspicata* ssp. *subspicata* dok su ostali taksoni preklapljeni (Slika 4.2.6.6). *S. kitaibelii* se preklapa sa podvrstama *S. subspicata* ssp. *liburnica* i *S. montana* ssp. *pisidica*, dok se druge dve podvrste *S. montana*, ssp. *montana* i

ssp. *variegata*, sa njima samo delimično preklapaju, a između sebe se jako preklapaju. Međutim, pomenuta preklapanja se ne vide kada se gledaju na drugim osama. DA analiza sa transformisanim podacima ($\log(x+1)$) je dala bolje rezultate. Ova analiza pokazuje samo delimično preklapanje četiri grupe (Slika 4.2.6.6.b). Ovde su, takođe, glavne komponente za odvajanje ksantomikrol i 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon. *S. subspicata* ssp. *subspicata* je i dalje odvojena ali manje nego u prethodnom slučaju. *S. subspicata* ssp. *liburnica* je mnogo manje preklopljena sa preostalim taksonima, ali su i dalje sve tri podvrste *S. montana* preklopljene. Jako su preklopljene ssp. *montana* i ssp. *variegata*, dok je ssp. *pisidica* samo delimično preklopljena sa njima, a jako sa vrstom *S. kitaibeli*. Uočena preklapanja nestaju već na trećoj osi.

Matrica konfuzije je mnogo čistija i tek poneka jedinka izlazi iz svoje grupe (Tabela 4.2.6.5).

Tabela 4.2.6.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, taksoni su grupe.

	<i>variegata</i>	<i>montana</i>	<i>pisidica</i>	<i>kitaibeli</i>	<i>liburnica</i>	<i>subspicata</i>	Σ
<i>variegata</i>	15	1	0	0	1	0	17
<i>montana</i>	8	15	2	0	0	0	25
<i>pisidica</i>	1	1	4	1	2	0	9
<i>kitaibeli</i>	0	1	3	26	1	0	31
<i>liburnica</i>	1	0	0	0	12	0	13
<i>subspicata</i>	0	0	0	0	0	13	13
Σ	25	18	9	27	16	13	108



Slika 4.2.6.6. Scatter plot diskriminantne analize (DA)

a) taksoni; b) transformisani podaci za taksoni; c) glavne komponente;

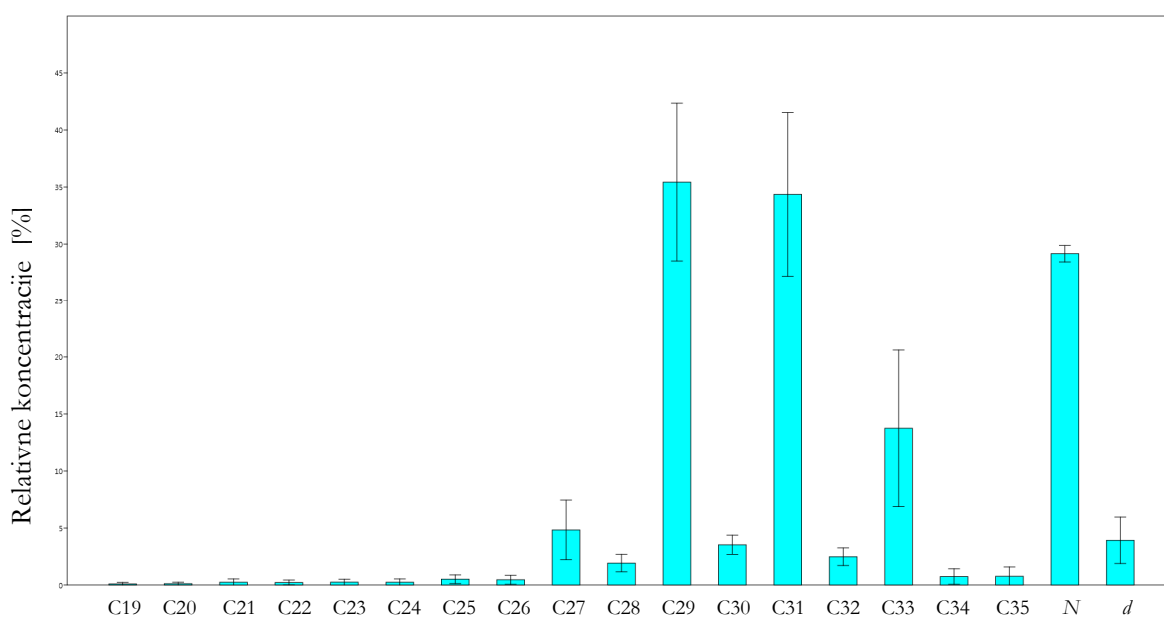
S. montana ssp. *variegata*: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk;
 ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Zvornik; ● Neretva; ● Makarska;
 ● Gacko; ● Mokrane; ssp. *pisidica*: * Galičica; *S. kitaibelii*: ■ Đerdap; ■ Temšica;
 ■ Poganovo; *S. subspicata* ssp. *liburnica*: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit;
 ▲ Đevrske; ssp. *subspicata*: ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Nikšić

4.3. *n*-Alkani

4.3.1. Hemijski sastav i varijabilnost površinskih *n*-alkana kod *Satureja montana*

U površinskim voskovima izolovanim sa listova *S. montana* bili su zastupljeni *n*-alkani dugi od 19 do 35 ugljenikovih atoma. Alkani srednjeg niza su detektovani u manjim procentima (oko 1%) dok su oni dugog niza bili mnogo zastupljeniji (Tabela 4.3.1.1). Dominantan je bio nonakozan (C₂₉) sa 35,8%, kodominantan je hentriakontana (C₃₁) sa 34,9%, dok je prateći bio tritriakontan (C₃₃) sa 14,2%.

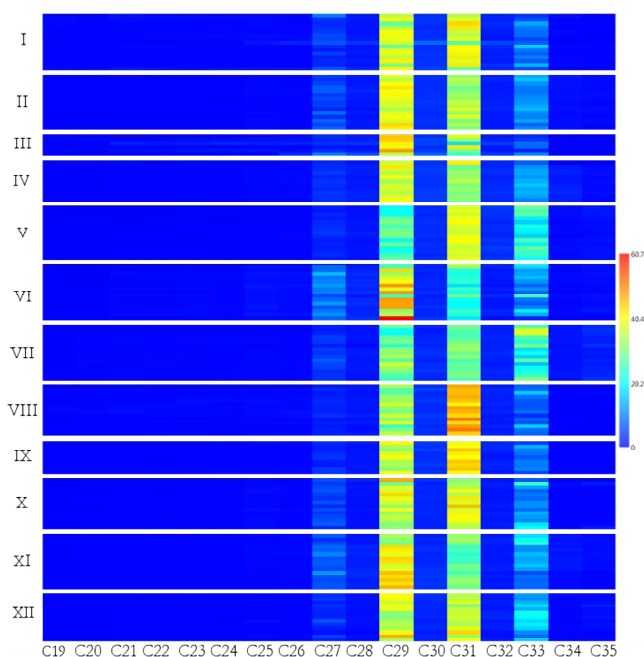
Prosečna dužina lanca (*N*) je $29,1 \pm 0,7$, dok je disperzija oko nje (*d*) bila $3,9 \pm 2,0$. GC-FID hromatogrami epikutikularnih *n*-alkana izolovanih sa površine listova ove vrste su dati u prilogu C1.



Slika 4.3.1.1. Prosečna relativna količina *n*-alkana, *N* i *d* vrednost dobijene kod populacija *S. montana*

Univarijantne analize

Matriks analiza je pokazala da postoji jako velika varijabilnost u količinama 4 alkana C_{27} , C_{29} , C_{31} i C_{33} (Slika 4.3.1.2). Distribucija n -alkana pokazuje veliku varijabilnost između populacija. Populacije Jadranovo i Mokrine se odlikuju nešto većim količinama C_{27} , dok populacije Krk i Zlobin imaju nešto veće udele C_{33} . Populacija Zvornik ima najveći udeo C_{31} , a Jadranovo najveći udeo C_{29} od svih populacija. Prema dominantnoj komponenti se naziru neke razlike između populacija, pa tako dominantnu komponentu C_{29} imaju, pored pomenute populacije Jadranovo i populacije Crni vrh, Divača, Vodnjan, Mokrine. Zatim veliki udeo C_{31} pored pomenute, Zvornik, imaju još i Neretva i Krk, pri čemu se kod populacije Krk uočava i veliki udeo C_{33} . Sličnu količinu dominantnih komponenti imaju Bovec, Gacko, Galičica i Zlobin.



Slika 4.3.1.2. Matriks plot
ssp. *variegata*: I-Bovec; II-Crni vrh;
III-Divača; IV-Vodnjan; V-Krk;
ssp. *montana*: VI-Jadranovo; VII-
Zlobin; VIII-Zvornik; IX-Neretva;
X-Gacko; XI-Mokrine;
ssp. *pisidica*: XII-Galičica;

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 12 populacija vrste *Satureja montana*, uključujući populacije sve tri podvrste (Tabela 4.3.1.1). Pokazano je značajno razlikovanje između sve tri podvrste na osnovu 7 od 17 alkana i to onih sa niskim udelom (C_{19} , C_{25} , C_{27} , C_{28} , C_{30} , C_{32} , C_{34}) i na osnovnu prosečne dužine lanca (N) i uslovno disperizije (d). Konzervativnija *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$) je pokazala diferencijaciju podvrste *variegata* od ostale dve na osnovu 2 od ovih 7 alkana (C_{30} i C_{32}) a od povrste *montana* na osnovu C_{19} dok od podvrste *pisidica* na osnovu C_{34} .

Tabela 4.3.1.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 17 nekoreliranih *n*-alkana zajedno sa *N* i *d* vrednostima kod podvrsta *S. montana*

	F	P	<i>variegata</i> n=62	<i>montana</i> n=82	<i>pisidica</i> n=13
C19	7.1	***	0.1±0.2 ^a	0.1±0.1 ^b	0.1±0.0 ^{ab}
C20	1.5	-	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a
C21	2.0	-	0.2±0.4 ^a	0.3±0.2 ^a	0.1±0.0 ^a
C22	2.0	-	0.2±0.3 ^a	0.2±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a
C23	2.5	-	0.2±0.3 ^a	0.3±0.2 ^a	0.1±0.1 ^a
C24	1.9	-	0.3±0.4 ^a	0.2±0.2 ^a	0.1±0.0 ^a
C25	3.9	**	0.4±0.4 ^{ab}	0.6±0.4 ^a	0.3±0.2 ^b
C26	2.5	-	0.5±0.5 ^a	0.5±0.3 ^a	0.2±0.1
C27	7.2	***	4.2±1.9 ^{ab}	5.5±3.0 ^a	3.4±1.4 ^b
C28	9.0	***	2.0±0.8 ^a	2.0±0.8 ^a	1.1±0.3
C29	0.3	-	35.1±6.8 ^a	35.5±7.4 ^a	36.8±4.6 ^a
C30	19.3	***	4.0±0.9	3.3±0.7 ^a	2.9±0.4 ^a
C31	1.0	-	34.9±4.9 ^a	33.6±8.8 ^a	36.1±3.6 ^a
C32	23.4	***	2.9±0.9	2.2±0.5 ^a	2.1±0.5 ^a
C33	0.5	-	13.3±6.5 ^a	13.9±7.5 ^a	15.3±3.9 ^a
C34	4.3	**	0.9±0.8 ^a	0.7±0.6 ^{ab}	0.4±0.1 ^b
C35	2.3	-	0.6±0.5 ^a	0.9±1.0 ^a	0.9±0.6 ^a
<i>N</i>	4.9	***	29.2±0.8 ^a	29.0±0.7 ^a	29.7±0.3
<i>d</i>	3.0	**	3.7±2.0 ^{ab}	4.2±2.1 ^a	2.9±0.6 ^b

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli *n*-alkana u profilu su dati kao srednja vrednost \pm SD; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

ANOVA je pokazala statistički značajnu diferencijaciju populacija *S. montana* na osnovu svih 17 alkana i prosečne dužine lanca (*N*) i disperzije oko nje (*d*) (Tabela 4.3.1.2). *Post-hoc* test pokazuje da se samo populacija Divača razlikuje od svih ostalih na osnovu C_{24} , dok se populacije Jadranovo (C_{27} i C_{31}), Vodnjan (C_{34}) i Zlobin (C_{35}) razlikuju od ostalih, ali nisu jedine populacije koje se razlikuju na pomenutim alkanima. Međutim, nijedan karakter ne odvaja sve populacije.

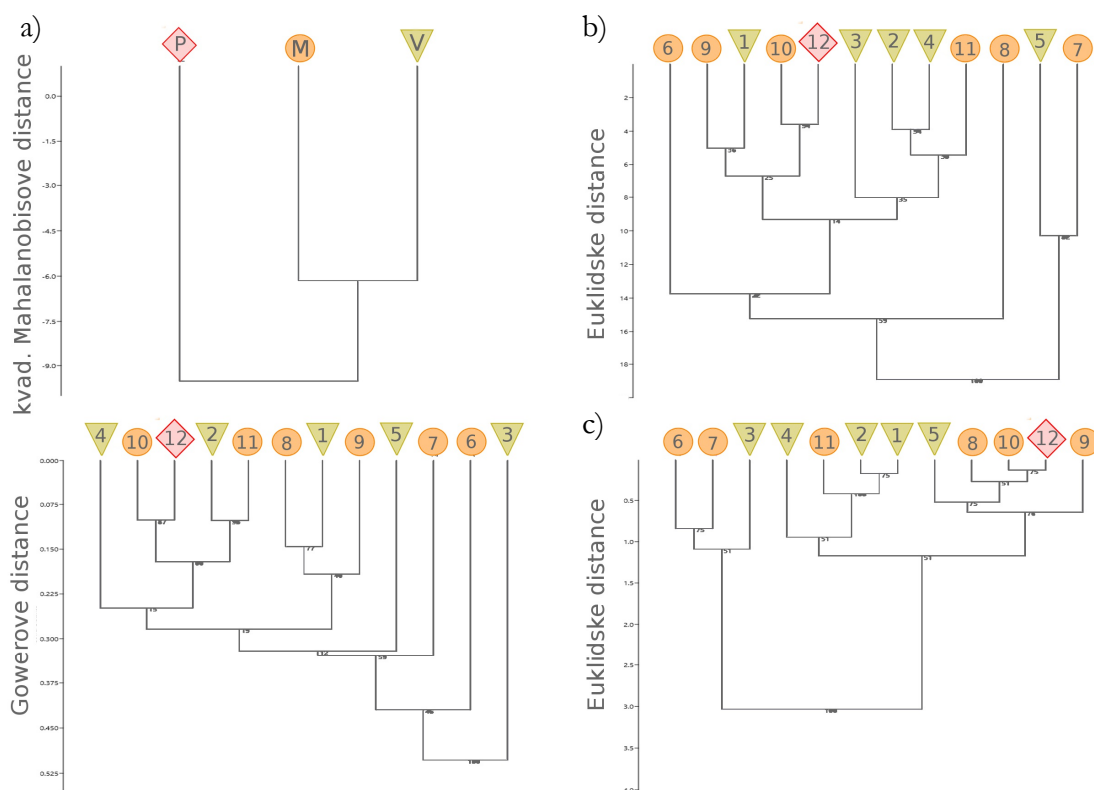
Tabela 4.3.1.2. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 17 nekoreliranih *n*-alkana zajedno sa *N* i *d* vrednostima kod populacija *S. montana*

	F	P	Bovec n=15	Crni vrh n=15	Divača n=7	Vodnjan n=10	Krk n=15	Jadranovo n=15	Zlobin n=15	Zvornik n=14	Neretva n=9	Gacko n=14	Mokrine n=15	Galičica n=13
C19	11.3	***	0.3±0.2 ^{acf}	0.1±0.1 ^w	0.2±0.2 ^w	- bde	- w	- bde	- bde	0.2±0.2 ^w	0.2±0.1 ^w	0.1±0.0 ^w	- bde	0.1±0.0 ^w
C20	10.6	***	0.2±0.1 ^w	0.1±0.1 ^w	0.2±0.2 ^w	- w	- w	- w	0.2±0.1 ^w	0.2±0.2 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.0 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.0 ^w
C21	5.2	***	0.4±0.5 ^w	0.1±0.1 ^w	0.6±0.8 ^w	0.2±0.1 ^w	0.1±0.0 ^w	0.4±0.2 ^w	0.3±0.1 ^w	0.4±0.3 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.0 ^w
C22	7.9	***	0.4±0.3 ^w	0.1±0.0 ^w	0.5±0.6 ^w	0.2±0.1 ^w	0.1±0.0 ^w	0.4±0.1 ^w	0.3±0.1 ^w	0.3±0.2 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.0 ^w
C23	9.6	***	0.3±0.2 ^w	0.1±0.1 ^w	0.7±0.8 ^{fd}	0.2±0.1 ^w	0.1±0.0 ^{abc}	0.5±0.2 ^w	0.3±0.1 ^w	0.4±0.2 ^w	0.2±0.2 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.1 ^w	0.1±0.1 ^{abc}
C24	6.6	***	0.4±0.3 ^a	0.1±0.0 ^a	0.8±1.1	0.2±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a	0.3±0.1 ^a	0.3±0.1 ^a	0.3±0.2 ^a	0.2±0.2 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a
C25	10.1	***	0.5±0.4 ^w	0.4±0.1 ^w	0.8±0.9 ^{acf}	0.5±0.1 ^w	0.2±0.1 ^{abd}	1.1±0.4 ^{ce}	0.4±0.1 ^w	0.5±0.2 ^w	0.3±0.2 ^w	0.6±0.3 ^w	0.4±0.1 ^w	0.3±0.2 ^w
C26	8.0	***	0.6±0.6 ^{abd}	0.3±0.1 ^{ab}	1.2±1.1 ^{cd}	0.5±0.1 ^{abd}	0.3±0.1 ^{ab}	0.8±0.3 ^{acd}	0.3±0.1 ^{ab}	0.5±0.3 ^{abd}	0.3±0.1 ^{ab}	0.3±0.1 ^{ab}	0.4±0.1 ^{abd}	0.2±0.1 ^{ab}
C27	23.8	***	4.6±2.2 ^w	5.7±1.7 ^w	3.9±2.6 ^w	3.6±0.5 ^w	2.8±0.8 ^w	9.8±2.4	4.1±1.4 ^w	2.5±0.7 ^w	3.1±1.0 ^w	5.3±1.3 ^w	7.2±2.0 ^{bfg}	3.4±1.4 ^w
C28	14.3	***	2.0±0.8 ^w	1.9±0.4 ^w	2.8±1.6 ^w	2.2±0.3 ^w	1.6±0.3 ^w	3.0±0.6 ^{beg}	1.6±0.3 ^w	1.6±0.4 ^w	1.7±0.2 ^w	1.4±0.4 ^w	2.5±0.6 ^w	1.1±0.3 ^{df}
C29	12.2	***	36.3±4.5 ^{abd}	38.8±2.9 ^{ab}	41.5±4.9 ^{ab}	37.3±2.8 ^{abd}	25.5±3.9 ^{cd}	40.5±10.0 ^{ab}	28.6±4.7 ^{cd}	31.8±4.1 ^{acd}	35.6±3.9 ^{abd}	36.0±5.3 ^{abd}	40.1±5.3 ^{ab}	36.8±4.6 ^{abd}
C30	10.7	***	4.2±1.2 ^w	3.6±0.3 ^w	4.8±1.4 ^{acd}	4.4±0.4 ^w	3.4±0.3 ^w	2.9±0.5 ^w	3.0±0.7 ^w	3.8±0.6 ^w	4.0±0.6 ^w	2.9±0.4 ^w	3.4±0.6 ^w	2.9±0.4 ^{bef}
C31	41.4	***	37.5±5.0 ^w	33.0±2.8 ^w	32.5±9.0 ^w	31.3±1.8 ^{bcd}	37.8±1.6 ^w	23.1±3.7	28.7±2.2 ^{bcd}	46.3±3.0 ^{fg}	42.2±2.5 ^{ac}	37.4±4.2 ^w	28.4±3.0 ^w	36.1±3.6 ^w
C32	12.4	***	2.8±1.0 ^w	2.2±0.4 ^w	2.9±1.1 ^w	3.2±0.3 ^w	3.7±0.6 ^{de}	2.0±0.7 ^w	2.6±0.3 ^w	2.4±0.4 ^w	2.5±0.6 ^w	1.9±0.4 ^w	2.0±0.3 ^w	2.1±0.5 ^w
C33	22.1	***	8.9±3.4 ^w	11.6±2.2 ^w	6.4±3.0 ^{abc}	13.1±1.5 ^w	22.7±4.3 ^e	12.2±5.5 ^w	25.2±6.8 ^e	8.7±3.6 ^w	9.0±2.9 ^w	12.8±5.2 ^w	12.9±5.1 ^w	15.3±3.9 ^{bdf}
C34	68.0	***	0.4±0.3 ^w	1.1±0.3 ^b	- w	2.4±0.4	0.7±0.2 ^w	0.5±0.2 ^w	1.4±0.2 ^b	0.0±0.1 ^w	0.2±0.1 ^w	0.3±0.2 ^w	1.3±0.6 ^b	0.4±0.1 ^w
C35	39.6	***	0.1±0.2 ^w	0.7±0.2 ^w	- acf	0.8±0.3 ^w	1.1±0.4 ^{bde}	0.8±0.4 ^w	2.7±0.8	0.1±0.2 ^{acf}	0.1±0.1 ^w	0.5±0.6 ^w	0.7±0.3 ^w	0.9±0.6 ^w
N	19.4	***	29.1±0.7 ^w	29.2±0.3 ^w	28.4±1.4 ^w	28.8±0.2 ^w	30.0±0.1 ^{dfg}	28.0±0.5 ^{be}	28.8±0.3 ^w	29.5±0.5 ^w	29.7±0.4 ^w	29.5±0.2 ^w	29.0±0.3 ^w	29.7±0.3 ^w
d	10.6	***	3.7±1.3 ^w	3.3±0.5 ^w	5.4±5.6 ^w	4.4±0.4 ^w	3.1±0.3 ^w	6.5±2.7 ^{bef}	6.3±0.9 ^w	2.7±0.8 ^w	2.3±0.3 ^{adg}	2.9±0.7 ^w	3.7±0.9 ^w	2.9±0.6 ^w

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f,g} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$), pri čemu ^w označava da se populacija nalazi u više od tri grupe; Udeli komponenti *n*-alkana su dati kao srednja vrednost ± SD; *** $P < 0,01$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 17 *n*-alkana (Slika 4.3.1.2) je pokazao različite rezultate u odnosu na to koje su distance korišćene. Kvadrirane Mahalanobisove distance su urađene samo za podvrste i tu se vidi da su sličnije podvrste *montana* i *variegata* dok se podvrsta *pisidica* izdvaja. Euklidske i Gowerove distance pokazuju da ne postoji neki trend grupisanja. Nešto bolja rezolucija dobijena je kada su korišćene samo vrednosti za prosečnu dužinu lanca (N) i disperziju oko nje (d). U jednu granu se izdvajaju populacije Jadranovo, Zlobin i Divača koje imaju najmanju vrednost za (N). Druga grana se deli na dve grupe u odnosu na vrednost (d) u prvoj, sa manjom vrednošću za disperziju oko (N) se nalaze populacije Vodnjan, Mokrine, Crni vrh, Bovec a u drugoj su Krk, Zvornik, Gacko, Galičica i Neretva.



Slika 4.3.1.3. Hijerarhijska klaster analiza 17 *n*-alkana kod podvrsta i populacija *S. montana*
 Podvrste: a) kvadrirane Mahalanobisove distance sa podvrstama;
 Populacije: b) Euklidske distance; samo sa N i d vrednostima: c) Euklidske distance i Gowerove distance; *V*- ssp. *variegata*: 1- Bovec; 2- Crni vrh; 3- Divača; 4- Vodnjan; 5- Krk; *M*- ssp. *montana*: 6- Jadranovo; 7- Zlobin; 8- Zvornik; 9- Neretva; 10- Gacko; 11- Mokrine; *P*-ssp. *pisidica*: 12- Galičica

Analiza glavnih komponenti (PCA)

Tabela 4.3.1.4. Udeo 17 *n*-alkana u prva tri vektora

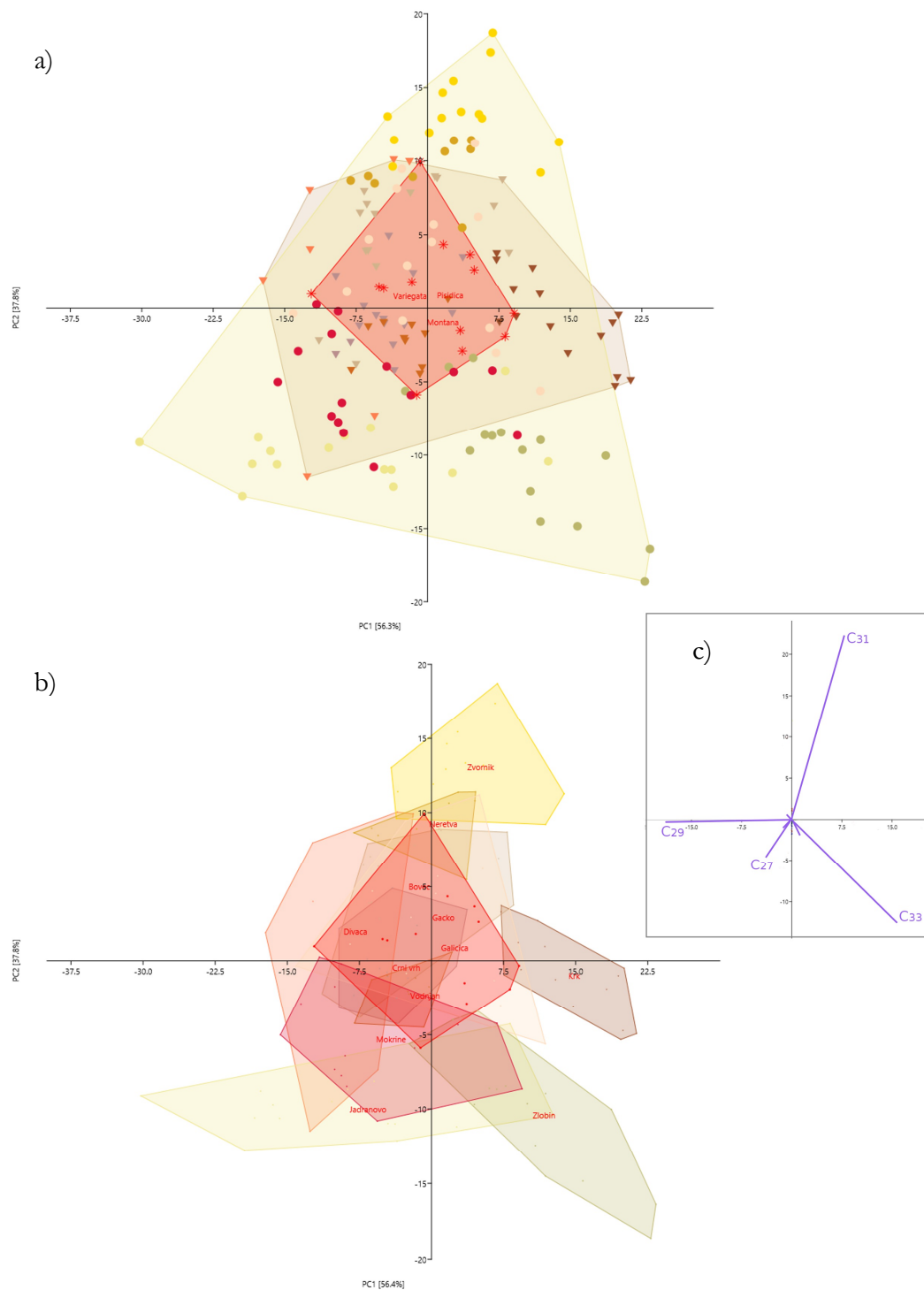
	PC 1	PC 2	PC 3
C19	0.00	0.01	-0.01
C20	0.00	0.01	-0.01
C21	0.00	0.00	-0.04
C22	0.00	0.00	-0.03
C23	-0.01	0.00	-0.03
C24	-0.01	0.00	-0.03
C25	-0.02	-0.01	-0.07
C26	-0.01	-0.01	-0.10
C27	-0.15	-0.18	-0.60
C28	-0.05	-0.04	-0.14
C29	-0.72	-0.01	0.59
C30	-0.03	0.03	-0.07
C31	0.30	0.85	0.14
C32	0.05	-0.01	-0.07
C33	0.60	-0.48	0.46
C34	0.01	-0.05	0.04
C35	0.05	-0.07	0.07

na analizi varijanse pokazao da postoje razlike između podvrsta i to između podvrsta *montana* i *pisidica*.

Tabela 4.3.1.6. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, grupe su populacije *S. montana*

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Σ
I	10	0	0	0	1	0	0	0	4	0	0	0	15
II	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
III	0	0	6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	7
IV	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	10
V	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	15
VI	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	15
VII	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	15
VIII	0	0	0	0	0	0	0	13	1	0	0	0	14
IX	1	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	9
X	0	0	0	0	0	0	0	0	1	11	0	2	14
XI	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	15
XII	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	11	13
Σ	11	17	6	10	17	15	15	13	15	12	13	13	157

spp. *variegata*: I-Bovec; II-Crni vrh; III-Divača; IV-Vodnjan; V-Krk; spp. *montana*: VI-Jadranovo; VII-Zlobin; VIII-Zvornik; IX-Neretva; X-Gacko; XI-Mokrine; spp. *pisidica*: XII-Galičica; Σ-ukupno

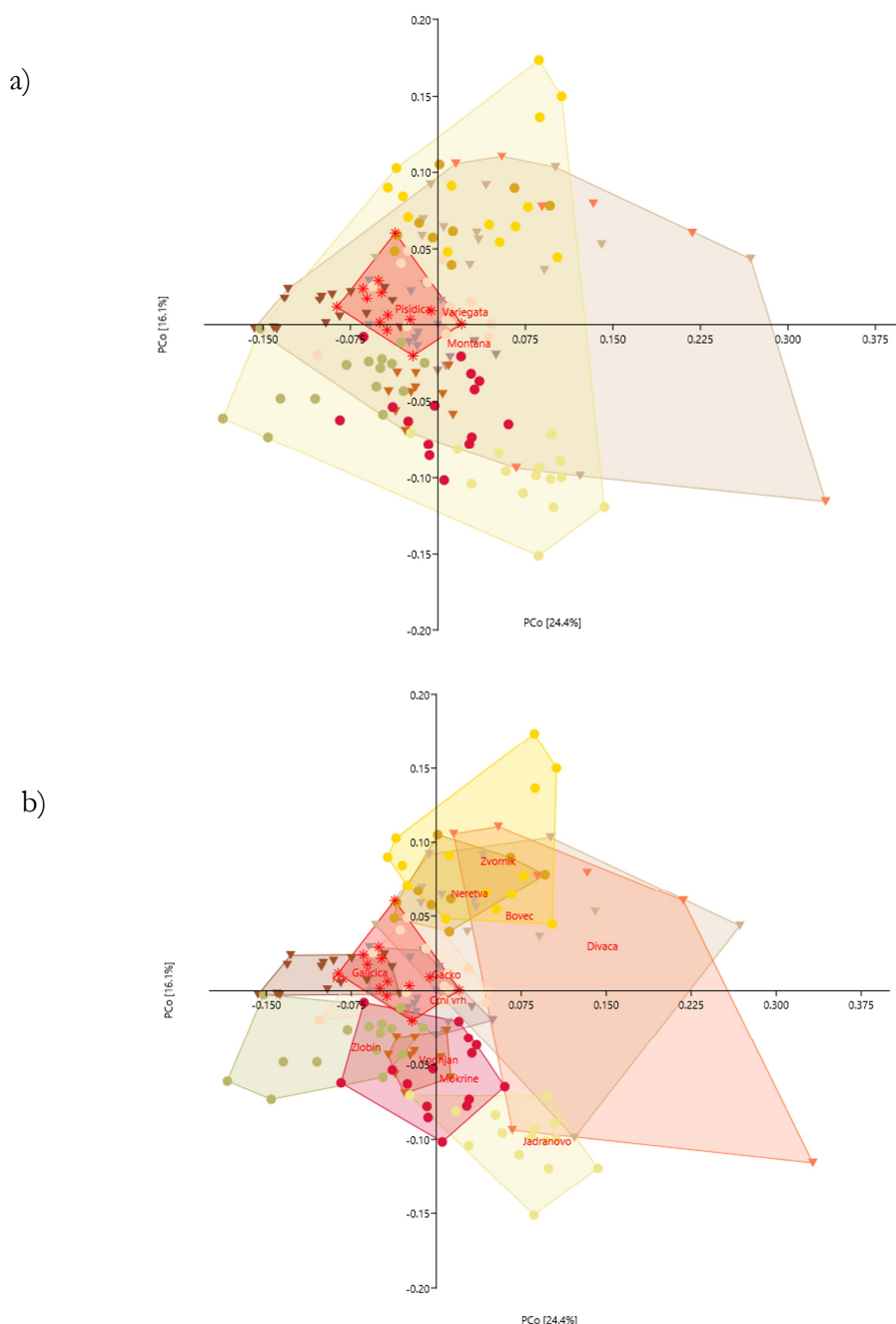


Slika 4.3.1.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) *S. montana*

a) sve tri podvrste; b) sve populacije; c) glavne komponente;

ssp. *variegata*: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Vodnjan; ▽ Krk; ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Zvornik; ● Neretva; ● Gacko; ● Mokrino; ssp. *pisidica*: * Galičica

PCoA sa Gowerovim distancama (Slika 4.3.1.5) je pokazala gotovo identične rezultate preklapanja sva tri taksona na obe ose. Tu se na osnovu opšte varijabilnosti najviše odvajaju populacije Jadranovo, Divača, Bovec, Zvornik i Neretva.



Slika 4.3.1.5. Scatter plot (PCoA) *S. montana*

a) sve tri podvrste; b) sve populacije; ▴ Bovec; ▴ Crni vrh; ▴ Divača; ▴ Vodnjan; ▴ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Zvornik; ● Neretva; ● Gacko; ● Mokrinc; * Galičica

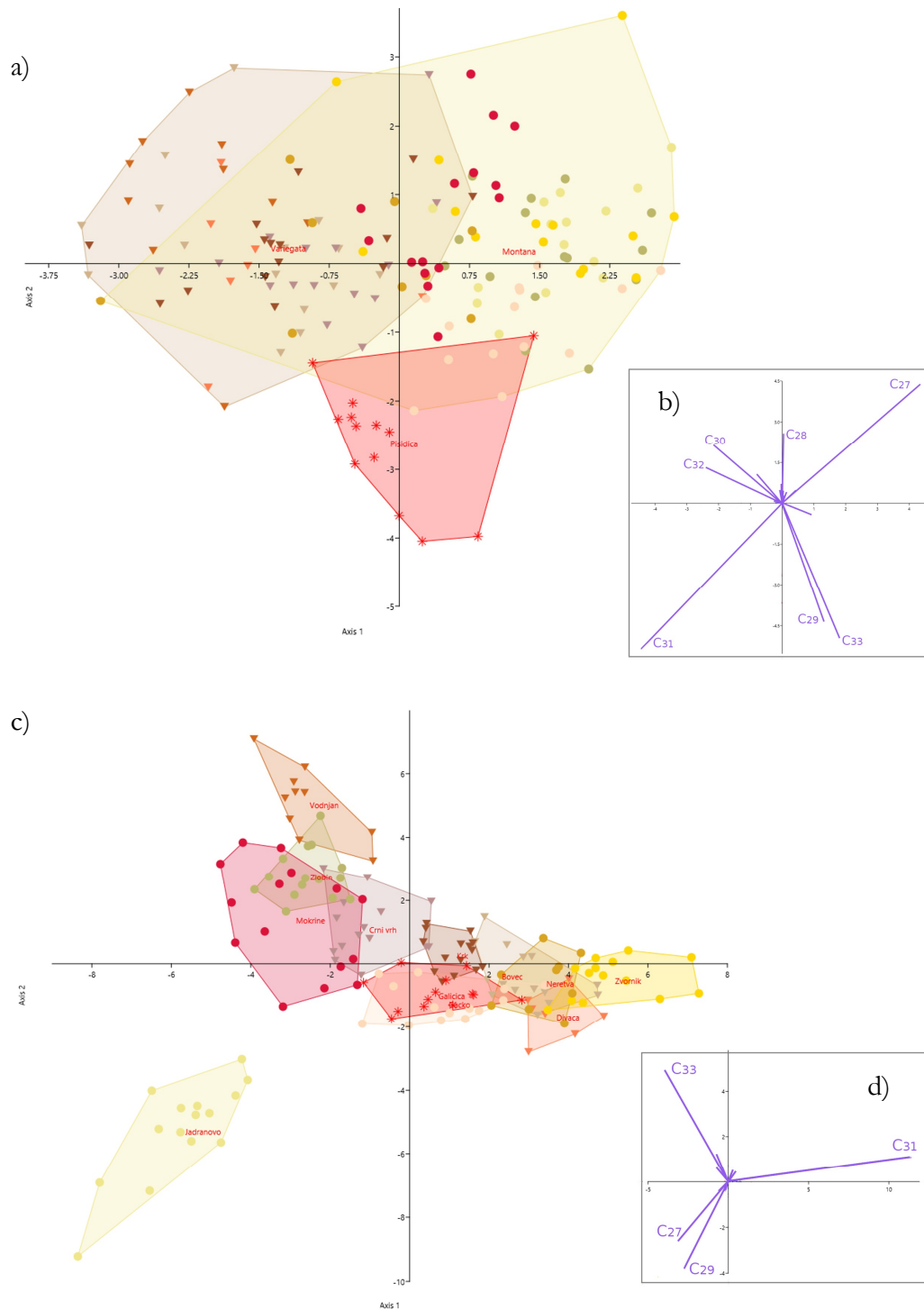
Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 70 %, dok druga objašnjava oko 30 % ukupne varijabilnosti, kada su u pitanju podvrste. Diskriminantna analiza je pokazala samo blago odvajanje sve tri podvrste (Slika 4.3.1.6). Najviše se odvojila podvrsta *pisidica*, na osnovu C_{29} i C_{31} , zatim podvrsta *variegata*, koja pokazuje manju varijabilnost od podvrste *montana*, na osnovu većih količina C_{30} , C_{32} i C_{34} . Tabela 4.3.1.5 *matriks* pokazuje da 11 od 82 individua iz podvrste *montana* treba smestiti u druge dve podvrste (8 u ssp. *variegata* a 3 u ssp. *pisidica*), a čak 10 od 62 jedinke iz podvrste *variegata* u druge dve (7 u ssp. *montana* a 3 u ssp. *pisidica*).

Tabela 4.3.1.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, grupe su podvrste *S. montana*

	<i>variegata</i>	<i>montana</i>	<i>pisidica</i>	Σ
<i>variegata</i>	52	7	3	62
<i>montana</i>	8	71	3	82
<i>pisidica</i>	0	1	12	13
Σ	60	79	18	157

Diskriminantna analiza sa populacijama pokazuje bolje odvajanje populacija na osnovu alkana (Slika 4.3.1.6). Prva diskriminantna osa objašnjava oko 39%, druga oko 23% a treća oko 16% ukupne varijabilnosti. Populacije se odvajaju na osnovu 4 alkana, kao i u PCA, C_{27} , C_{29} , C_{31} , C_{33} . Scatter plot pokazuje da su se populacije rasporedile između C_{31} i C_{33} , pri čemu u populaciji Vodnjan ima najviše C_{34} , a u Zvorniku najviše C_{31} , dok se populacija Jadranovo odvajaju od ostalih na osnovu velikih količina C_{27} i C_{29} . Matrica konfuzije pokazuje da kod polovine populacija jedinke ostaju u svojim grupama, dok u drugoj polovini prelaze u druge grupe (Tabela 4.3.1.6). Najviše jedinki prelazi iz populacije Bovec (5 od 15), zatim po dve iz populacija Gacko i Mokrine, i po jedna iz populacija Divača, Zvornik i Galičica.

Slika 4.3.1.6. Scatter plot (DA) *S. montana*

a) sve podvrste; b) glavni vektori; c) sve populacije; d) glavni vektori; ▴ Bovec; ▽ Crni vrh; ▾ Divača; ▿ Vodnjan; ▾ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Zvornik; ● Neretva; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica

Bioklimatski podaci

Rezultati jednostavne linearne regresione analize sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom su pokazali da postoji umerena pozitivna korelacija sa bioklimatskim podacima i to između C_{31} i BIO2, BIO4, BIO5 i BIO7 parametra (temperaturni parametri). Negativna korelacija je između C_{34} i BIO2, BIO3 i BIO7. Primećene korelacije mogu da budu posledica slučajnosti.

Mantelov i parcijalni Mantelov test su pokazali da nema korelacije između profila *n*-alkana i bioklimatskih podataka ili geografskog regiona ($R < 0.6$, $P > 0.05$), tabela 4.3.1.7.

Tabela 4.3.1.7. Mantelov i parcijalni Mantelov test

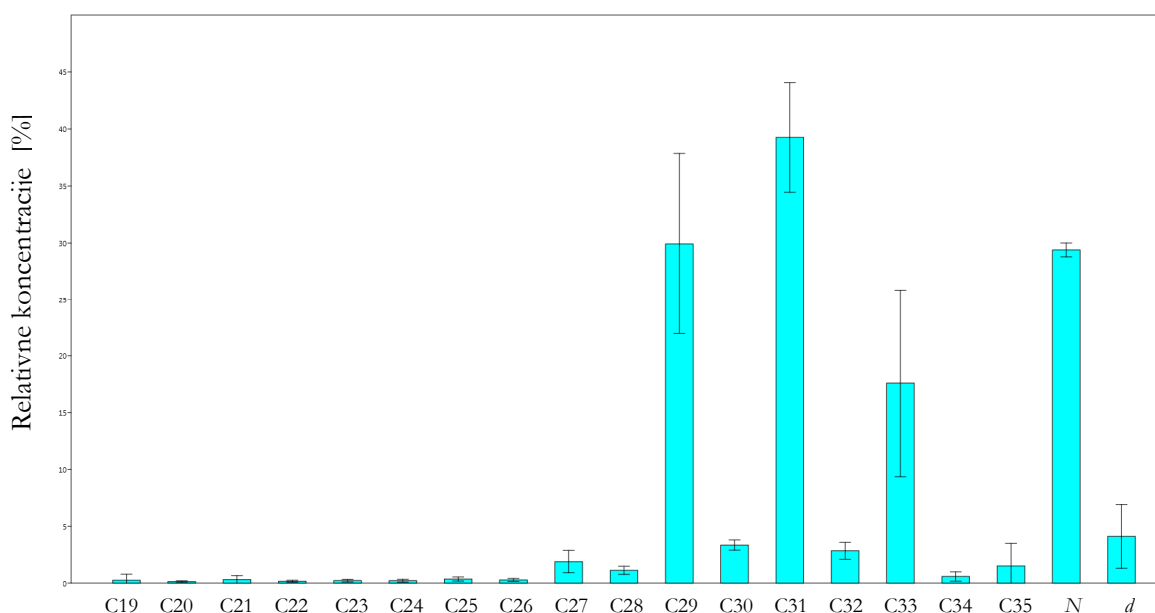
	Euklidske distance		Gowerove distance	
	R	P	R	P
EW+BIO	-0.04	0.58	-0.19	0.86
EW+BIO-Geo	0.05	0.37	-0.15	0.79
EW+Geo	-0.23	0.96	-0.16	0.83

EW-profil *n*-alkana; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region;

4.3.2. Hemijski sastav i varijabilnost površinskih *n*-alkana kod *Satureja kitaibelii*

Površinski voskovi izolovani sa listova *S. kitaibelii* su imali *n*-alkane duge od 19 do 35 ugljenikovih atoma (Tabela 4.3.2.1). Alkani srednjeg niza su detektovani u manjim procentima (oko 1%) dok su oni dugog niza sa neparnim brojem ugljenikovih atoma bili mnogo zastupljeniji (Slika 4.3.2.1). Dominantan je bio hentriakontana (C₃₁) sa 39,3%, zatim sledi nonakozan (C₂₉) sa 29,9% koga prati tritriakontan (C₃₃) sa 17,6%.

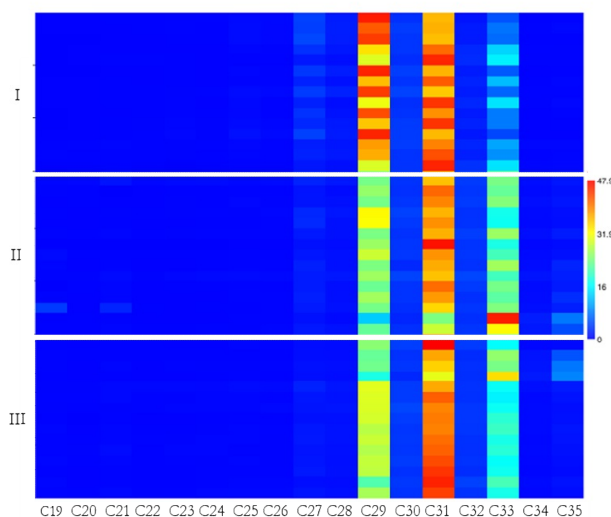
Prosečna dužina lanca (*N*) je $29,4 \pm 0,6$, dok je disperzija oko nje (*d*) bila $4,1 \pm 2,8$. GC-FID hromatogrami epikutikularnih *n*-alkana izolovanih sa površine listova proučavanih populacija su u prilogu C1.



Slika 4.3.2.1. Prosečna relativna količina *n*-alkana, *N* i *d* vrednost dobijene kod populacija *S. kitaibelii*

Univarijantne analize

Matriks plot je pokazao da su dominantno zastupljena samo tri alkana i to C_{29} , C_{31} i C_{33} (Slika 4.3.2.2). Populacija Đerdap se opet najviše odvaja po većim količinama C_{29} i C_{31} od druge dve populacije koje imaju međusobno slične udele sva tri dominantna n -alkana.



Slika 4.3.2.2. Matriks plot *S. kitaibelii*
I-Đerdap; II-Poganovo; III- Temšica

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 17 n -alkana i sve 3 populacija vrste *Satureja kitaibelii* (Tabela 4.3.2.2). Analiza je pokazala statistički značajnu razliku između populacija na osnovu 8 od 17 komponenti (C_{25} , C_{27} , C_{28} , C_{29} , C_{32} , C_{33} , C_{34} i C_{35}) i vrednosti (d). Međutim, konzervativnija *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$) je pokazala da se na svim pomenutim alkanima razlikuje populacija Đerdap od druge dve, ali ni na jednom karakteru se nisu razlikovale sve tri populacije kao ni populacije Temšica i Poganovo. Izvedeni karakter prosečna dužina lanca (N) nije pokazala statistički značajnu razliku između populacija, dok je disperzija (d) pokazala razliku kao i ostali alkani (između Đerdapa i druge dve populacije).

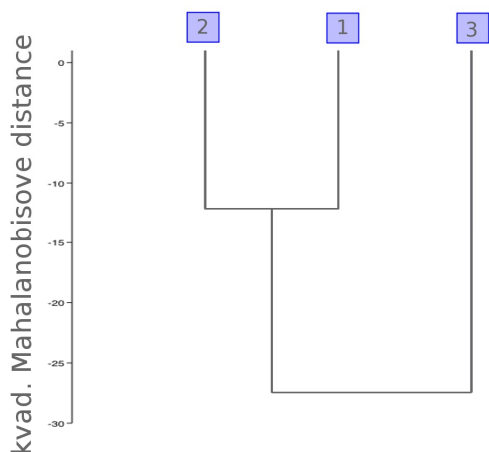
Tabela 4.3.2.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 17 nekoreliranih *n*-alkana zajedno sa *N* i *d* vrednostima kod populacije *S. kitaibelii*

	F	P	Đerdap n=15	Poganovo n=15	Temšica n=15
C19	1.8	-	0.1±0.0 ^a	0.4±0.9 ^a	0.2±0.1 ^a
C20	2.7	-	0.1±0.0 ^a	0.2±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a
C21	2.5	-	0.2±0.1 ^a	0.4±0.6 ^a	0.3±0.1 ^a
C22	0.9	-	0.2±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a
C23	0.2	-	0.2±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a
C24	2.9	-	0.2±0.1 ^a	0.2±0.2 ^a	0.3±0.1 ^a
C25	6.7	***	0.5±0.2	0.3±0.1 ^a	0.3±0.1 ^a
C26	0.3	-	0.3±0.1 ^a	0.3±0.1 ^a	0.3±0.1 ^a
C27	23.0	***	2.8±1.0	1.6±0.5 ^a	1.2±0.4 ^a
C28	10.1	***	1.4±0.4	1.0±0.3 ^a	1.0±0.2 ^a
C29	37.9	***	38.8±6.1	24.7±4.5 ^a	26.2±3.7 ^a
C30	1.3	-	3.4±0.4 ^a	3.2±0.5 ^a	3.4±0.4 ^a
C31	2.9	-	40.2±3.9 ^a	36.9±5.4 ^a	40.7±4.5 ^a
C32	47.0	***	2.0±0.5	3.4±0.4 ^a	3.2±0.4 ^a
C33	28.8	***	9.3±3.7	24.1±7.3 ^a	19.5±4.9 ^a
C34	17.6	***	0.2±0.1	0.8±0.4 ^a	0.7±0.4 ^a
C35	5.2	**	0.3±0.1	2.1±1.8 ^a	2.2±2.6 ^a
<i>N</i>	1.1	-	29.6±0.3 ^a	29.3±0.7 ^a	29.3±0.7 ^a
<i>d</i>	5.5	**	2.3±0.2	5.2±2.9 ^a	4.8±3.3 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^a grupa je prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeo *n*-alkana u profilu su date kao srednja vrednost \pm SD; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Hijerarhijska klaster analiza sa 17 *n*-alkana je dala iste rezultate na svim izabranim distancama (kvadrirane Mahalanobisove, Euklidske i Gowerove distance) sa razlikom u dužini grana (Slika 4.3.2.3). Analiza pokazuje da se izdvaja Đerdap a da su Poganovo i Temšica sličnije.



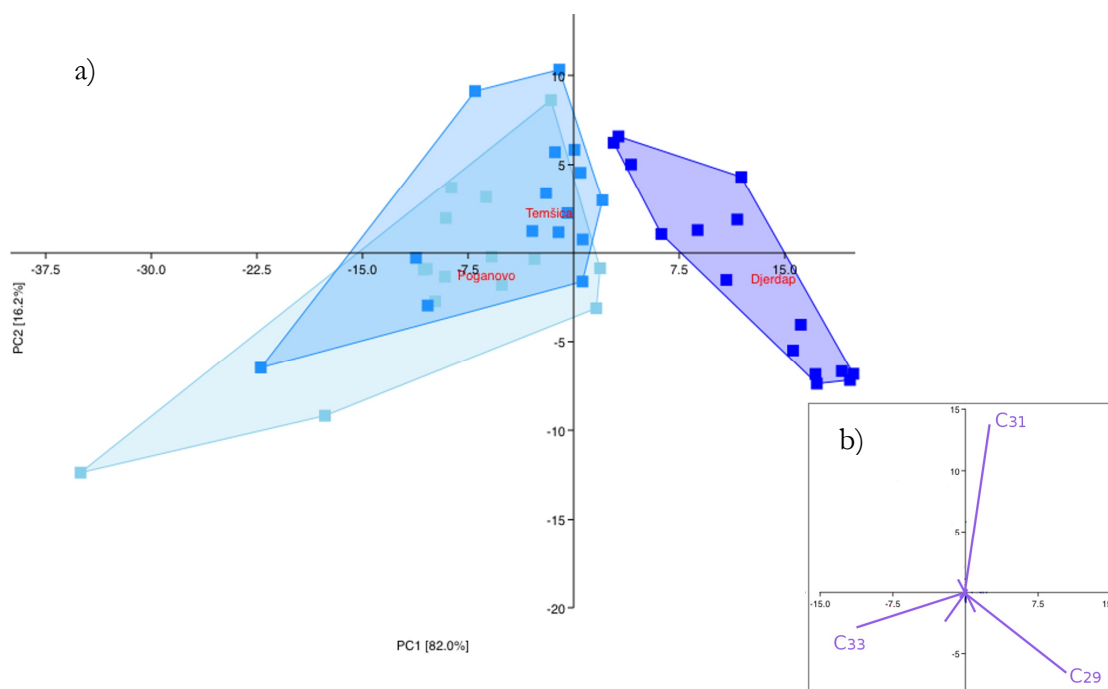
Slika 4.3.2.3. Hijerarhijska klaster analiza 17 *n*-alkana kod populacija *S. kitaibelii*; 1- Đerdap; 2- Poganovo; 3- Temšica

Analiza glavnih komponenti (PCA)

Tabela 4.3.2.3. Udeo 17 *n*-alkana u prva tri vektora

	PC 1	PC 2	PC 3
C19	-0.01	-0.01	0.04
C20	0.00	0.00	0.00
C21	-0.01	0.00	0.02
C22	0.00	0.00	-0.01
C23	0.00	0.00	0.00
C24	0.00	0.00	-0.01
C25	0.01	-0.01	-0.02
C26	0.00	-0.01	0.00
C27	0.06	-0.10	0.12
C28	0.02	-0.03	0.01
C29	0.67	-0.41	0.25
C30	0.02	0.01	-0.04
C31	0.16	0.87	0.06
C32	-0.05	0.06	0.10
C33	-0.71	-0.18	0.41
C34	-0.03	-0.03	-0.08
C35	-0.13	-0.16	-0.85

Varijabilnost sastava proučavanih alkana kod 45 individa je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 98 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.3.2.4). Analiza je potvrdila rezultate prethodnih analiza (ANOVA, Matriks i HCA), da se populacija Đerdap najviše odvaja, a da se populacije Temšica i Poganovo preklapaju. Najznačajnije su tri komponente na prve dve ose i to C₂₉, C₃₁ i C₃₃. Međutim, iako ANOVA nije pokazala C₃₁ kao statistički značajan za razlikovanje između populacija, bitan je za sveukupnu varijabilnost.



Slika 4.3.2.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

a) populacije *S. kitaibelii*; b) glavni vektori; ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo

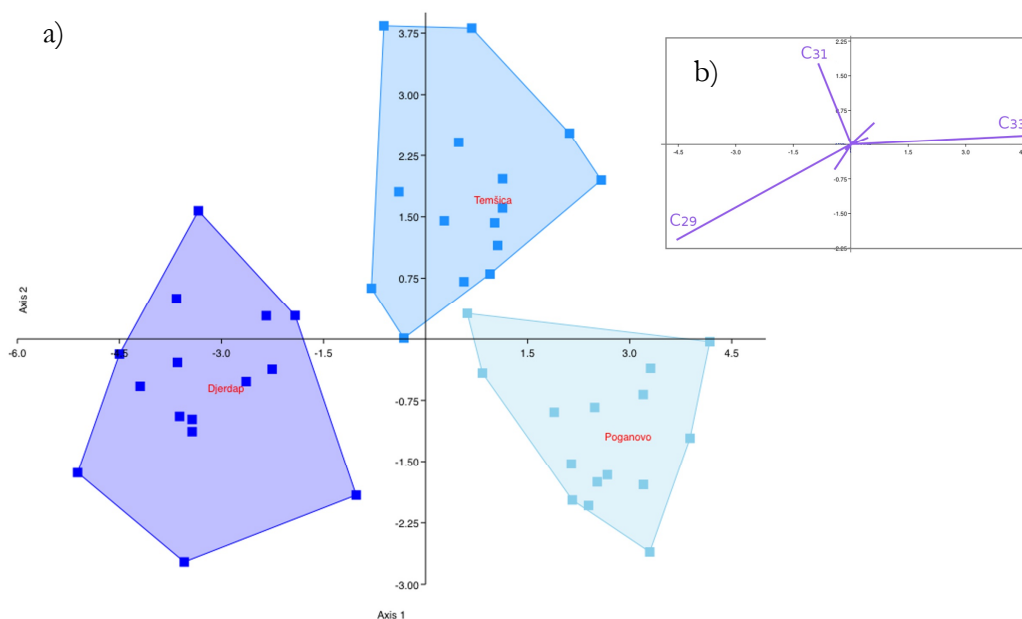
Diskriminantna analiza (DA)

Urađena je diskriminantna analiza sa populacijama kao grupama (Slika 4.3.2.5). Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 79 %, dok druga objašnjava oko 21 % ukupne varijabilnosti kada su u pitanju populacije. DA je pokazala diferencijaciju sve tri populacije na osnovu tri dominantna alkana (C_{29} , C_{31} i C_{33}). Populacije Temšica i Poganovo su najbliže ali se odvajaju jedna od druge po većim količinama C_{31} i intermedijarnih količina C_{33} prisutnih u populaciji Temšica, dok je u populaciji Poganovo prisutna veća količina C_{33} . Đerdap se odvaj od druge dve populacije po većim količinama C_{29} i manjim količinama C_{31} i C_{33} .

Matrica konfuzije je pokazala da samo jedna jedinka iz populacije Poganovo prelazi u populaciju Temšica, dok sve ostale ostaju u svojim grupama (Tabela 4.3.2.4).

Tabela 4.3.2.4. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, populacije *S. kitaibelii*

	Đerdap	Poganovo	Temšica	Σ
Đerdap	15	0	0	15
Poganovo	0	14	1	15
Temšica	0	0	15	15
Σ	15	14	16	45



Slika 4.3.2.5. Scatter plot analize glavnih komponenti (DA)

a) populacije *S. kitaibelii*; b) glavni vektori; ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo

Bioklimatski podaci

Test linearne korelacije (Tabela 4.3.2.5) sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom i 17 *n*-alkana su pokazali da postoji statistički značajna korelacija sa većim brojem bioklimatskim parametara. Nadmorska visina je negativno korelisana sa alkanima C₂₇ i C₂₉, a pozitivno sa C₃₂-C₃₄. Slična razlika između pozitivno i negativno korelisanih je primećena i kod ostalih parametara i alkana. Parametri BIO2, BIO3 i BIO7 su negativno, dok su BIO4, BIO5, BIO6, BIO8 i BIO10 pozitivno korelisani sa C₃₁. Količina padavina je pozitivno korelisana sa kraćim alkanima. Srednja temperatura je bila pozitivno korelisana samo sa C₂₇.

Tabela 4.3.2.5. Test linearne korelacije *n*-alkana *S. kitaibelii* i bioklimatskih komponenti

	C19	C20	C21	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31	C32	C33	C34	C35	N	d
ALT	0.2	0.3	0.3	0.1	0.0	0.3	-0.5	-0.1	-0.7	-0.6	-0.8	-0.1	-0.1	0.8	0.7	0.6	0.4	-0.2	0.4
BIO1	-0.1	-0.2	-0.1	-0.2	0.0	-0.3	0.3	0.0	0.6	0.5	0.6	-0.1	-0.1	-0.5	-0.4	-0.4	-0.4	0.2	-0.3
BIO2	0.3	0.3	0.3	0.0	-0.1	0.2	-0.5	-0.1	-0.5	-0.5	-0.7	-0.2	-0.3	0.8	0.8	0.7	0.4	-0.2	0.4
BIO3	0.3	0.3	0.3	-0.1	-0.1	0.1	-0.4	-0.1	-0.4	-0.4	-0.7	-0.2	-0.3	0.7	0.7	0.6	0.3	-0.1	0.4
BIO4	-0.3	-0.3	-0.3	0.0	0.0	-0.2	0.5	0.1	0.6	0.5	0.8	0.1	0.2	-0.8	-0.8	-0.7	-0.4	0.2	-0.5
BIO5	-0.1	-0.2	-0.1	-0.2	0.0	-0.3	0.3	0.0	0.6	0.5	0.6	-0.1	-0.1	-0.5	-0.4	-0.4	-0.4	0.2	-0.3
BIO6	-0.2	-0.3	-0.2	-0.1	0.0	-0.3	0.4	0.1	0.7	0.6	0.7	0.0	0.0	-0.7	-0.6	-0.6	-0.4	0.2	-0.4
BIO7	0.3	0.3	0.3	-0.1	-0.1	0.1	-0.5	-0.1	-0.5	-0.4	-0.7	-0.2	-0.3	0.7	0.7	0.6	0.4	-0.2	0.4
BIO8	-0.2	-0.3	-0.3	-0.1	0.0	-0.3	0.5	0.1	0.7	0.6	0.8	0.0	0.1	-0.8	-0.7	-0.6	-0.4	0.2	-0.4
BIO9	0.2	0.1	0.2	-0.2	-0.1	-0.1	-0.2	-0.1	0.1	-0.1	-0.2	-0.2	-0.3	0.3	0.4	0.3	0.1	0.0	0.1
BIO10	-0.2	-0.3	-0.3	-0.1	0.0	-0.3	0.4	0.1	0.7	0.6	0.7	0.0	0.0	-0.8	-0.6	-0.6	-0.4	0.2	-0.4
BIO11	0.2	0.2	0.2	-0.2	-0.1	-0.1	-0.3	-0.1	-0.1	-0.1	-0.3	-0.2	-0.3	0.4	0.5	0.4	0.1	0.0	0.2
BIO12	-0.3	-0.3	-0.3	0.0	0.1	-0.2	0.5	0.1	0.6	0.5	0.8	0.2	0.3	-0.8	-0.8	-0.7	-0.4	0.2	-0.4
BIO13	-0.3	-0.3	-0.3	0.0	0.0	-0.3	0.5	0.1	0.6	0.5	0.8	0.1	0.2	-0.8	-0.8	-0.7	-0.4	0.2	-0.5
BIO14	-0.3	-0.3	-0.3	0.1	0.1	-0.1	0.4	0.1	0.4	0.4	0.6	0.2	0.3	-0.7	-0.7	-0.6	-0.3	0.1	-0.4
BIO15	-0.2	-0.3	-0.3	0.0	0.0	-0.3	0.5	0.1	0.7	0.6	0.8	0.1	0.2	-0.8	-0.8	-0.7	-0.4	0.2	-0.5
BIO16	-0.3	-0.3	-0.3	0.0	0.1	-0.2	0.5	0.1	0.6	0.5	0.8	0.1	0.2	-0.8	-0.8	-0.7	-0.4	0.2	-0.4
BIO17	-0.3	-0.2	-0.3	0.1	0.1	0.0	0.4	0.1	0.2	0.2	0.5	0.2	0.3	-0.5	-0.6	-0.5	-0.2	0.1	-0.3
BIO18	-0.3	-0.3	-0.3	0.0	0.0	-0.2	0.5	0.1	0.6	0.5	0.8	0.1	0.2	-0.8	-0.8	-0.7	-0.4	0.2	-0.4
BIO19	-0.3	-0.3	-0.3	0.1	0.1	-0.1	0.4	0.1	0.4	0.4	0.6	0.2	0.3	-0.7	-0.7	-0.6	-0.3	0.1	-0.4

masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti veće od 0.6

Slično rezultatima Mantelovog i parcijalnog Mantelovog testa za morfometrijske karaktere, pronađena je jaka, ali statistički nepodržana korelacija između alkana i geografskog regiona (Tabela 4.3.2.6). Sa povećanjem broja populacija ova korelacija bi se sigurno izmenila.

Tabela 4.3.2.6. Mantelov i parcijalni Mantelov test

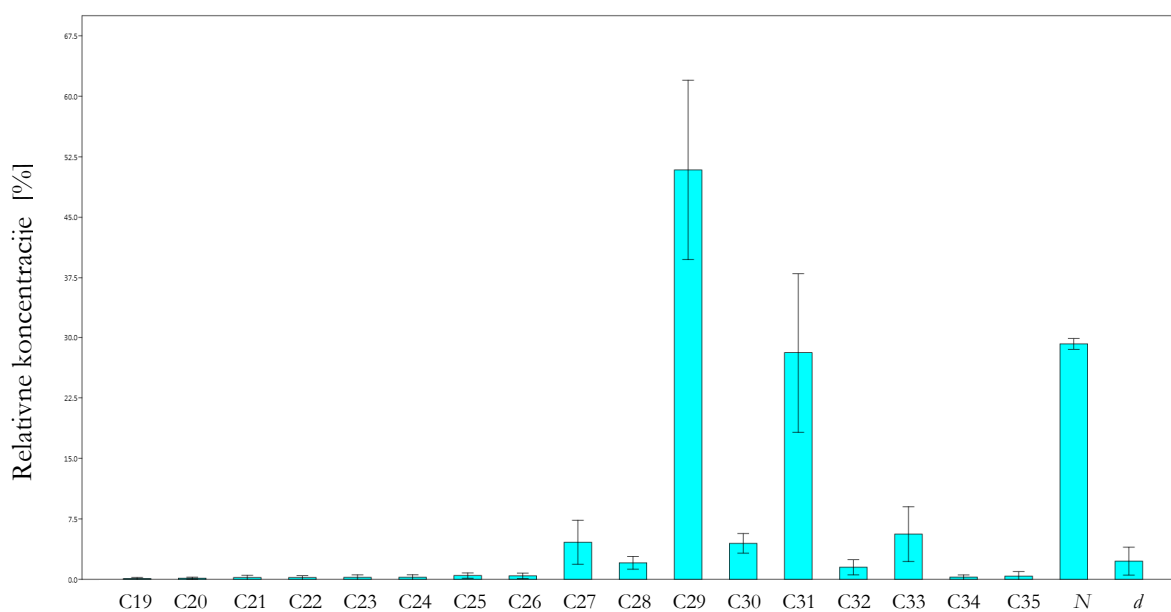
	Euklidske distance		Gowerove distance		Kvadrirane Mahalanobisove distance	
	R	P	R	P	R	P
EW+BIO	0.89	0.17	0.95	0.16	0.99	0.17
EW+BIO-Geo	1.00	0.49	1.00	0.50	1.00	0.16
EW+Geo	1.00	0.17	0.97	0.16	0.90	0.17

EW-profil *n*-alkana; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region

4.3.3. Hemijski sastav i varijabilnost površinskih *n*-alkana kod *Satureja subspicata*

U površinskim voskovima izolovanim sa listova *S. subspicata* su bili zastupljeni *n*-alkani kao i kod prethodne dve vrste, dugi od 19 do 35 ugljenikovih atoma (Prilog C2). Alkani srednjeg niza su detektovani u manjim procentima dok su dugog niza bili više zastupljeniji (Tabela 4.3.3.1). C₂₇ do C₃₃ u proseku predstavljaju oko 97% ukupnog sadržaja alkana. Dva dominantna su bila nonakozan (C₂₉) sa 51,4% i hentriakontan (C₃₁) sa 27,6%. Izuzetak je populacija Divača kod koje su ova dva alkana kodominantna.

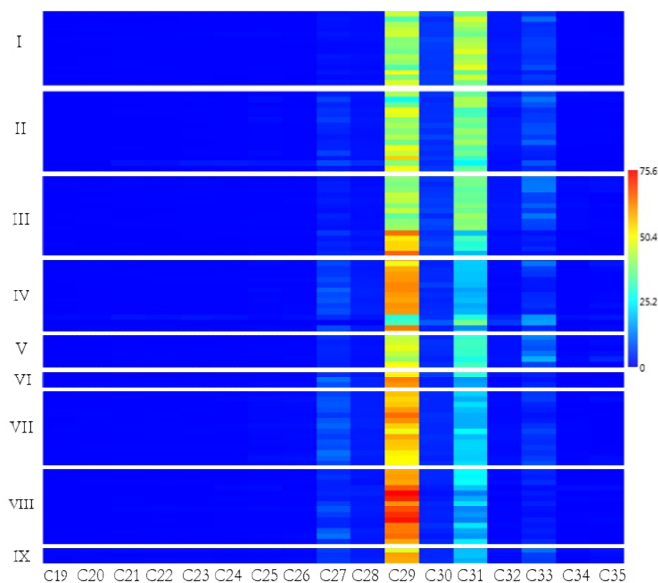
Prosečna dužina lanca (*N*) je 28,5 do 29,7 u svim populacijama i na osnovu nje se dele u dve grupe: onu sa višim (*N*) vrednostima (severne populacije, sa izuzetkom populacije Velebit) i one sa nižim vrednostima gde su uglavnom južne populacije i Velebit. Disperzija oko *N* (*d*) bila je $2,7 \pm 2,1$.



Slika 4.3.3.1. Prosečna relativna količina *n*-alkana, *N* i *d* vrednost dobijene kod populacija *S. subspicata*

Univarijantne analize

Matriks plot pokazuje da su kod obe podvrste dominantni alkani C_{29} i C_{31} (Slika 4.3.3.2). Podvrsta *liburnica* se odlikuje sličnijim količinama ova dva alkana, sa izuzetkom populacije Velebit kod koje je dominantniji C_{29} . Kod tipske podvrste je veći udeo C_{29} a manji C_{31} , što je posebno vidljivo kod populacije Crkvice.



Slika 4.3.3.2. Matriks plot
ssp. *liburnica*: I-Divača; II-Jadranovo; III-Zlobin; IV-Velebit; V-Šušanj;
ssp. *subspicata*: VI-Biokovo; VII-Orjen; VIII-Crkvice; IX-Nikšić

Analiza varijanse (ANOVA) urađena sa obe podvrste *Satureja subspicata* je pokazala da 8 od 17 alkana (C_{25} - C_{33}) i prosečna dužina lanca (N) statistički značajno diferenciraju dve podvrste (Tabela 4.3.3.2).

ANOVA sa svih 9 populacija i 17 alkana, uključujući i izvedene vrednosti (N) i (d), je pokazala da postoje statistički značajne razlike između populacija na osnovu 13 alkana (C_{19} , C_{20} , C_{25} - C_{35}) i N vrednosti. *Post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$) je takođe pokazala odvajanje podvrsta ali bez jasnog odvajanja populacija.

Tabela 4.3.3.1. Rezultati analize varijanse 17 nekoreliranih *n*-alkana zajedno sa *N* i *d* vrednostima kod podvrsta *S. subspicata*

	F	P	<i>liburnica</i> n=63	<i>subspicata</i> n=34
C19	2.4	-	0.1±0.1	0.1±0.1
C20	2.1	-	0.1±0.1	0.2±0.1
C21	0.0	-	0.2±0.3	0.2±0.2
C22	0.8	-	0.2±0.2	0.3±0.2
C23	0.0	-	0.3±0.4	0.2±0.2
C24	0.3	-	0.2±0.4	0.3±0.2
C25	5.1	**	0.4±0.3	0.6±0.3
C26	12.9	***	0.4±0.3	0.6±0.4
C27	37.8	***	3.5±2.2	6.6±2.5
C28	39.1	***	1.7±0.7	2.6±0.5
C29	56.4	***	45.9±9.7	60.1±7.0
C30	39.5	***	4.9±1.1	3.6±0.8
C31	67.6	***	32.8±8.9	19.5±4.1
C32	38.9	***	1.9±0.9	0.8±0.4
C33	16.0	***	6.6±3.6	3.9±2.1
C34	0.9	-	0.3±0.3	0.2±0.3
C35	1.5	-	0.4±0.6	0.3±0.5
<i>N</i>	28.3	***	29.4±0.7	28.8±0.4
<i>d</i>	0.1	-	2.3±2.0	2.2±1.2

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^a grupa je prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli *n*-alkana su dati kao srednja vrednost ± SD; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

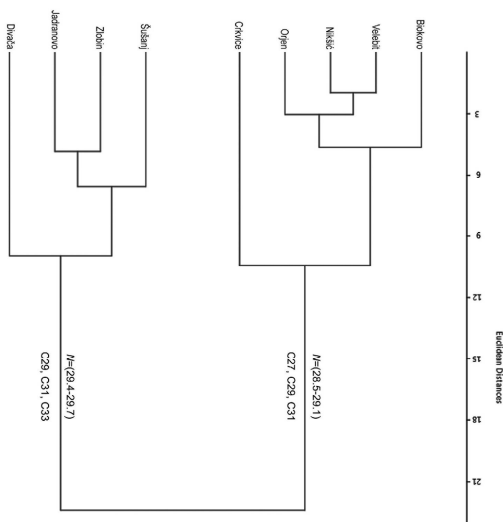
Tabela 4.3.3.2. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 17 nekoreliranih *n*-alkana zajedno sa *N* i *d* vrednostima kod populacija *S. subspicata*

<i>n</i> -Alkan	F	<i>P</i>	Divača n=14	Jadranovo n=15	Zlobin n=15	Velebit n=13	Šušanj n=6	Biokovo n=3	Orjen n=14	Crkvice n=14	Nikšić n=3
C ₁₉	6.68	***	0.1 ± 0.1 ^b	0.0 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.2 ^b	0.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.1 ^d	0.0 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.2 ^c
C ₂₀	13.13	***	0.2 ± 0.1 ^h	0.0 ± 0.0 ^b	0.1 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.2 ^d	0.0 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.2 ^e	0.2 ± 0.1 ^f	0.0 ± 0.0 ^a	0.4 ± 0.2 ^g
C ₂₁	1.62	-	0.2 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.4 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.5 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.3 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.3 ^a
C ₂₂	2.42	**	0.2 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.4 ^a	0.1 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.3 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.3 ^c
C ₂₃	1.44	-	0.2 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.6 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.4 ± 0.5 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.3 ^a
C ₂₄	0.68	-	0.2 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.6 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.4 ± 0.4 ^a	0.2 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	0.4 ± 0.2 ^a
C ₂₅	6.09	***	0.2 ± 0.1 ^b	0.7 ± 0.5 ^a	0.3 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.0 ^b	0.6 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.3 ^c	0.4 ± 0.2 ^a	0.6 ± 0.3 ^a
C ₂₆	8.60	***	0.2 ± 0.1 ^a	0.4 ± 0.5 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.3 ^b	0.4 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.1 ^b	0.9 ± 0.3 ^c	0.3 ± 0.2 ^a	0.6 ± 0.2 ^b
C ₂₇	17.84	***	1.4 ± 0.5 ^d	4.1 ± 1.7 ^c	2.7 ± 1.0 ^c	6.3 ± 2.4^f	3.3 ± 0.5 ^c	7.8 ± 3.4^a	7.9 ± 1.6^a	5.3 ± 2.7^b	5.1 ± 0.5^b
C ₂₈	13.46	***	1.2 ± 0.2 ^d	1.9 ± 0.7 ^c	1.5 ± 0.6 ^c	2.5 ± 0.8 ^b	1.6 ± 0.2 ^c	3.2 ± 0.7 ^a	2.8 ± 0.3 ^a	2.3 ± 0.5 ^f	2.6 ± 0.5 ^b
C ₂₉	15.29	***	41.0 ± 5.3^a	42.3 ± 7.1^a	46.1 ± 9.9^d	55.3 ± 11.6^b	45.4 ± 3.4^d	58.7 ± 5.8^c	55.7 ± 4.6^b	66.1 ± 5.7^c	56.4 ± 5.7^a
C ₃₀	9.52	***	5.6 ± 0.7^g	4.8 ± 0.8^c	5.4 ± 1.0^d	4.4 ± 1.6 ^e	4.0 ± 0.6^a	4.0 ± 1.5^a	3.9 ± 0.4 ^b	3.1 ± 0.8^f	3.7 ± 0.2 ^b
C ₃₁	35.26	***	41.5 ± 4.5^d	35.7 ± 4.8^b	33.4 ± 6.7^b	20.4 ± 6.2^a	30.3 ± 1.7^c	20.1 ± 7.9^a	20 ± 2.4^a	18.7 ± 5.2^a	19.7 ± 2.6^a
C ₃₂	8.32	***	2.2 ± 0.4 ^b	2.2 ± 0.9 ^b	1.8 ± 0.6 ^c	1.3 ± 1.5 ^a	1.7 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.6 ^d	1.1 ± 0.3 ^a	0.5 ± 0.3 ^c	1.1 ± 0.4 ^a
C ₃₃	5.15	***	5.4 ± 1.8^b	6.3 ± 2.5^a	6.7 ± 3.7^a	6.0 ± 4.8^a	10.7 ± 3.9^c	2.9 ± 0.8 ^b	4.6 ± 1.6^b	2.4 ± 0.9 ^b	6.6 ± 3.1^a
C ₃₄	3.34	***	0.1 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.3 ^a	0.3 ± 0.3 ^a	0.5 ± 0.3 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	0.2 ± 0.4 ^a	0.4 ± 0.3 ^a
C ₃₅	4.88	***	0.1 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.4 ^b	0.8 ± 0.7 ^b	1.2 ± 1.2 ^c	0.1 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.5 ^a	0.2 ± 0.3 ^a	0.8 ± 0.7 ^b
<i>N</i>	9.33	***	29.7 ^a	29.4 ^c	29.6 ^a	28.8 ^b	29.7 ^a	28.8 ^b	28.5 ^d	29.1 ^e	28.6 ^b
<i>d</i>	1.55	-	1.7 ^a	2.7 ^a	1.9 ^a	2.9 ^a	2.4 ^a	1.9 ^a	2.8 ^a	1.3 ^a	3.3 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f,g,h} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli *n*-alkana su dati kao srednja vrednost ± SD; najveće vrednosti su napisane masnim slovima; *N*-prosečna dužina lanca; *d*-disperzija oko *N*; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 17 alkana je pokazao jasno odvajanje na dve klade (Slika 4.3.3.3). Euklidske distance u jednu kladu smeštaju sve populacije podvrste *liburnica* osim populacije Velebit koja je smeštena u drugu kladu u kojoj su populacije tipske podvrste.



Slika 4.3.3.3. Hijerarhijska klaster analiza 17 *n*-alkana populacija *S. subspicata*
Euklidske distance (izvor: Dodoš i sar. 2017)

Analiza glavnih komponenti (PCA)

Tabela 4.3.3.4. Udeo 17 *n*-alkana u prva tri vektora

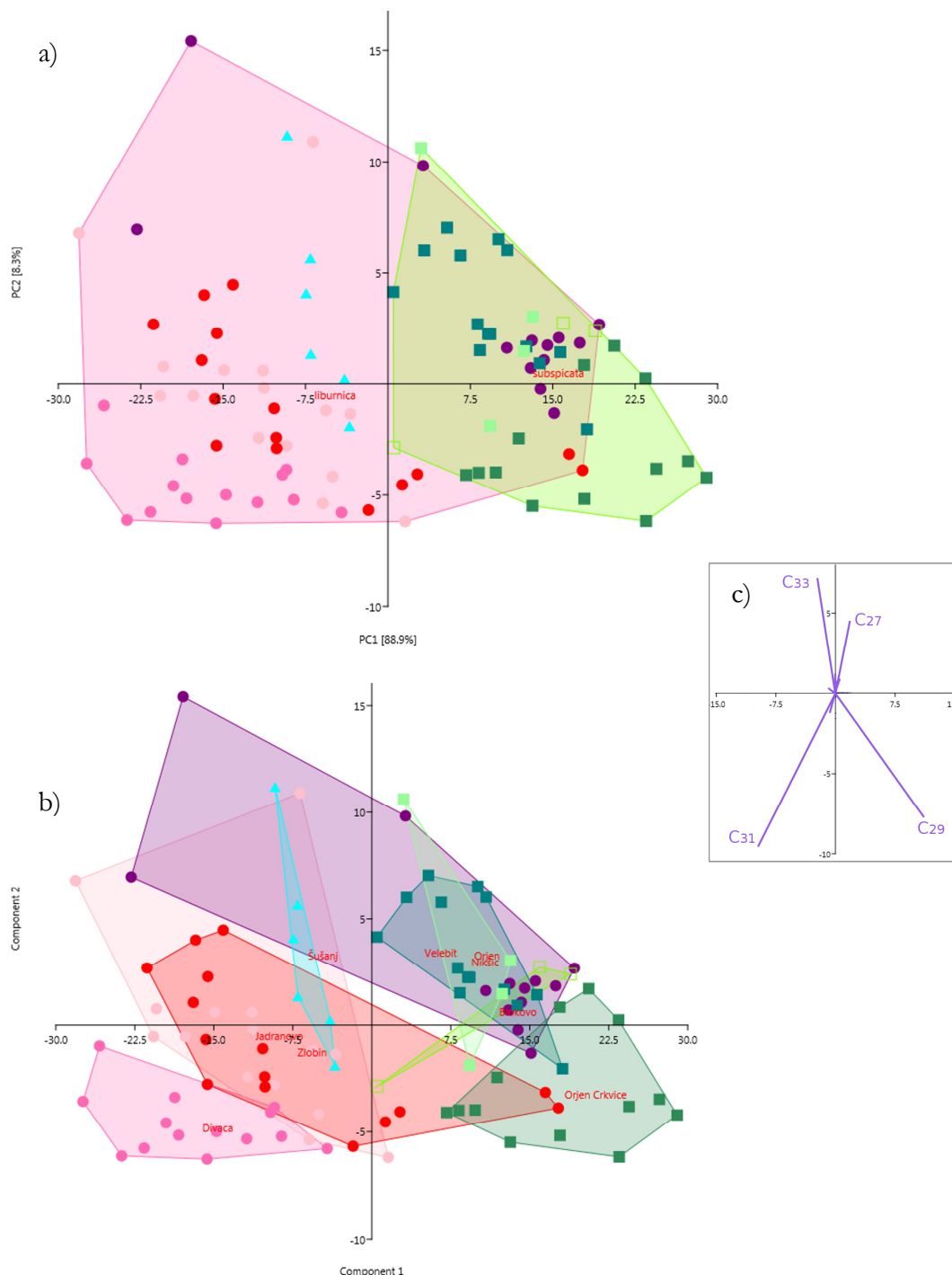
	PC 1	PC 2	PC 3
C19	0.00	0.01	0.00
C20	0.00	0.01	0.00
C21	0.00	0.03	0.01
C22	0.00	0.03	0.01
C23	0.00	0.04	0.02
C24	0.00	0.04	0.02
C25	0.00	0.04	0.08
C26	0.01	0.05	0.06
C27	0.12	0.30	0.70
C28	0.04	0.06	0.14
C29	0.74	-0.51	-0.22
C30	-0.05	-0.08	-0.04
C31	-0.64	-0.63	0.04
C32	-0.06	0.02	-0.04
C33	-0.15	0.47	-0.64
C34	0.00	0.03	-0.05
C35	0.00	0.08	-0.12

najveće vrednosti su napisane masnim slovima

Varijabilnost sastava proučavanih 17 alkana kod 97 individua je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose PCA objašnjavaju oko 96 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.3.3.4). Analiza je potvrdila odvajanje između severnih i južnih populacija, odnosno između dve podvrste, opet sa izuzetkom populacije Velebit. Diferencijaciji najviše doprinose alkani srednjeg i

dugog niza. C_{27} i C_{29} odvajaju podvrstu *subspicata*, dok C_{31} i C_{33} odvajaju podvrstu *liburnica*.

Analiza glavnih komponenti sa označenim populacijama daje malo jasniju sliku (Slika 4.3.3.4). Vidimo da se populacija Velebit nalazi između dve podvrste i da se tek poneka jedinka iz populacije Zlobin preklapa sa populacijom Crkvice.



Slika 4.3.3.4. Scatter plot analize glavnih komponenti *S. subspicata*

a) podvrste; b) sve populacije; c) glavne komponente; ssp. *liburnica*: ● Divača, ● Jadranovo, ● Zlobin, ● Velebit, ● Šušanj, ssp. *subspicata*: ● Biokovo, ● Orjen, ● Crkvice, ● Nikšić.

Diskriminantna analiza (DA)

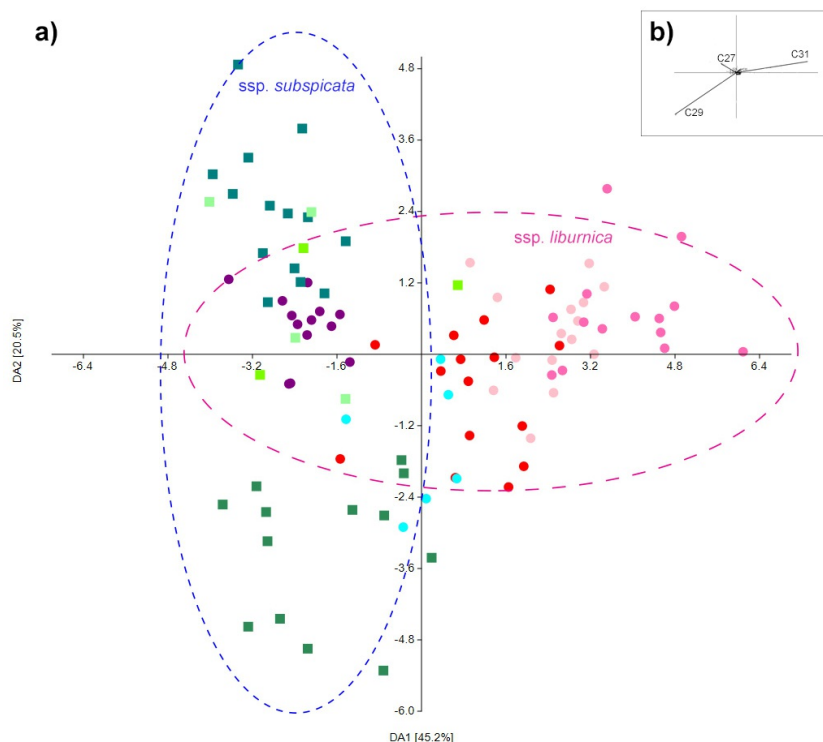
Urađena je diskriminantna analiza sa populacijama kao grupama (Slika 4.3.3.5). Prva diskriminantna funkcija objašnjava 45,2% dok druga objašnjava 20,5% ukupne varijabilnosti. Odvajanju populacija po prvoj osi najviše doprinose C_{29} i C_{31} , dok na drugoj su to C_{27} , C_{30} i C_{33} . Scatter plot pokazuje odvajanje populacija Biokovo, Orjen, Crkvice, Nikšić i Velebit na jednu stranu i ostalih populacija podvrste *liburnica* na drugu. Populacija Velebit (ssp. *liburnica*) se grupiše bliže populacijama tipske podvrste zbog malih količina C_{31} i velikih C_{29} , dok se populacija Crkvice (ssp. *subspicata*) iako ostaje bliže svojoj podvrsti odvajajući na svoju stranu od populacija obe podvrste. Populacija Šušanj se nalazi negde između populacija obe podvrste. Populacije podvrste *liburnica* značajno variraju duž prve ose i nešto manje duž druge, dok populacije podvrste *subspicata* uglavnom variraju duž druge ose.

Matrica konfuzije *Matriks* pokazuje da kod tri populacije (Divača, Šušanj i Crkvice) sve jedinice ostaju u svojim grupama, dok u ostalim populacijama prelaze 1 do 2 jedinice (Tabela 4.3.3.5).

Tabela 4.3.3.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, populacije *S. subspicata* su grupe

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	Σ
I	14	0	0	0	0	0	0	0	0	14
II	0	14	1	0	0	0	0	0	0	15
III	0	0	13	0	1	0	0	1	0	15
IV	0	0	0	12	0	0	0	0	1	13
V	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6
VI	0	0	1	0	0	2	0	0	0	3
VII	0	0	0	1	0	0	12	0	1	14
VIII	0	0	0	0	0	0	0	13	0	13
IX	0	0	0	1	0	0	0	1	2	4
Σ	14	14	15	14	7	2	12	15	4	97

I-Divača; II-Jadranovo; III-Zlobin; IV-Velebit; V-Šušanj; VI-Biokovo; VII-Orjen; VIII-Crkvice; IX-Nikšić;



Slika 4.3.3.5.
Scatter plot
diskriminantne
analize svih
populacija *S.*
subspicata
a) sve populacije;
b) glavne
komponente; *ssp.*
liburnica.

● Divača;
● Jadranovo;
● Zlobin;
● Velebit;
● Šušanj;
■ Biokovo;
■ Orjen;
■ Crkvice;
■ Nikšić; (izvor:
Dodoš i sar. 2017)

Bioklimatski podaci

Rezultati jednostavne linearne regresione analize sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom, kao i 17 alkana, uključujući i (*N*) i (*d*) vrednosti, pokazali su da između njih ne postoji statistički značajna korelacija. Blaga korelacija je primećena između nadmorske visine i dominantnih alkana. Međutim, alkani su pokazali visoku korelaciju sa ekspozicijom. Populacije Velebit i Crkvice žive na staništima koja su okrenuta ka istoku dok sve ostale imaju zapadnu ekspoziciju.

Mantelov i parcijalni Mantelov test su pronašli slabu ali statistički značajnu korelaciju između profila alkana i geografskog regiona, koja se dodatno povećala kad je izostavljena populacija Velebit (Tabela 4.3.3.6). Međutim, parcijalni *Mantelov* test nije pokazao statistički značajnu korelaciju između profila alkana, morfoloških podataka i geografskog regiona bez obzira da li su korišćeni svi setovi podataka ili ne.

Tabela 4.3.3.6. Mantelov i parcijalni Mantelov test

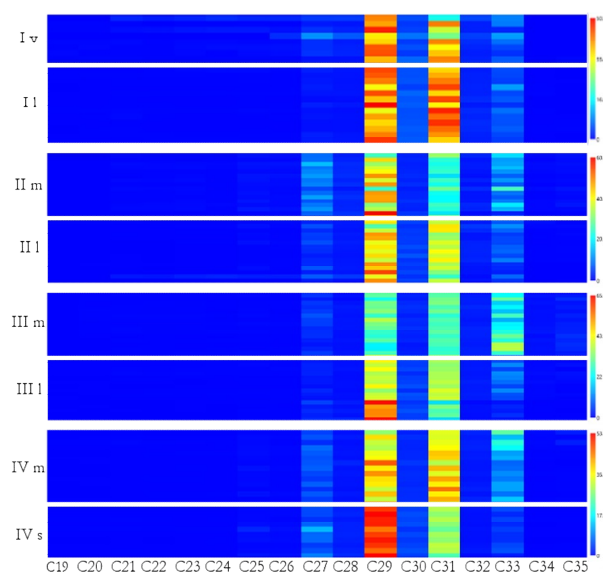
	Euklidske distance	
	Svi	Bez Velebita
EW+Geo	0.56	0.86
EW+M	0.44	0.56
EW+M+Geo	-	-

Prikazane su samo statistički značajne vrednosti; *EW*-*n*-alkani; *Geo*-geografski region; *M*-morfometrijski karakteri; masnim slovima su obeležene vrednosti koje imaju najveću statistički značajnu korelaciju.

4.3.4. Diferencijacija simpatrijskih populacija *S. montana* i *S. subspicata* na osnovu *n*-alkana

Univarijantne analize

Matriks plot pokazuje da su kod svih vrsta dominantni C_{29} i C_{31} , dok se kod vrsta *S. montana* javlja C_{27} i C_{33} kod većine populacija u većem procentu nego kod *S. subspicata* i (Slika 4.3.4.1). Najsličnije profile imaju vrste na lokalitetu Divača, a najrazličitije na lokalitetu Gacko.



Slika 4.3.4.1. Matriks plotovi simpatrijskih populacija
Divača: *variegata* (Iv) i *liburnica* (Il);
Jadranovo: *montana* (IIm) i *liburnica* (IIIl);
Zlobin: *montana* (IIIIm) i *liburnica* (IIIll);
Gacko: *montana* (IVm) i *subspicata* (IVs);

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 8 simpatrijskih populacija vrsta *Satureja montana* i *S. subspicata* (Tabela 4.3.4.1). Pokazala je da su statistički značajni svi alkani, kao i (N) i (d) vrednosti za diferencijaciju svih proučavanih populacija. Međutim, *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$) je pokazala da se simpatrijske vrste sa lokaliteta Divača razlikuju na osnovu 10 od 17 alkana i izvedenim vrednostim (N) i (d). Vrste na lokalitetu Jadranovo 9 od 17 alkana i (N) i (d) vrednosti, slično je i na lokalitetu Zlobin gde se razlikuju na osnovu istog broja alkana i samo disperzije (d). Najmanji broj alkana razlikuje vrste na lokalitetu Gacko samo 5 od 17. Alkani koji razlikuju simpatrijske vrste na različitim lokalitetima niti su isti niti su uvek dominantni.

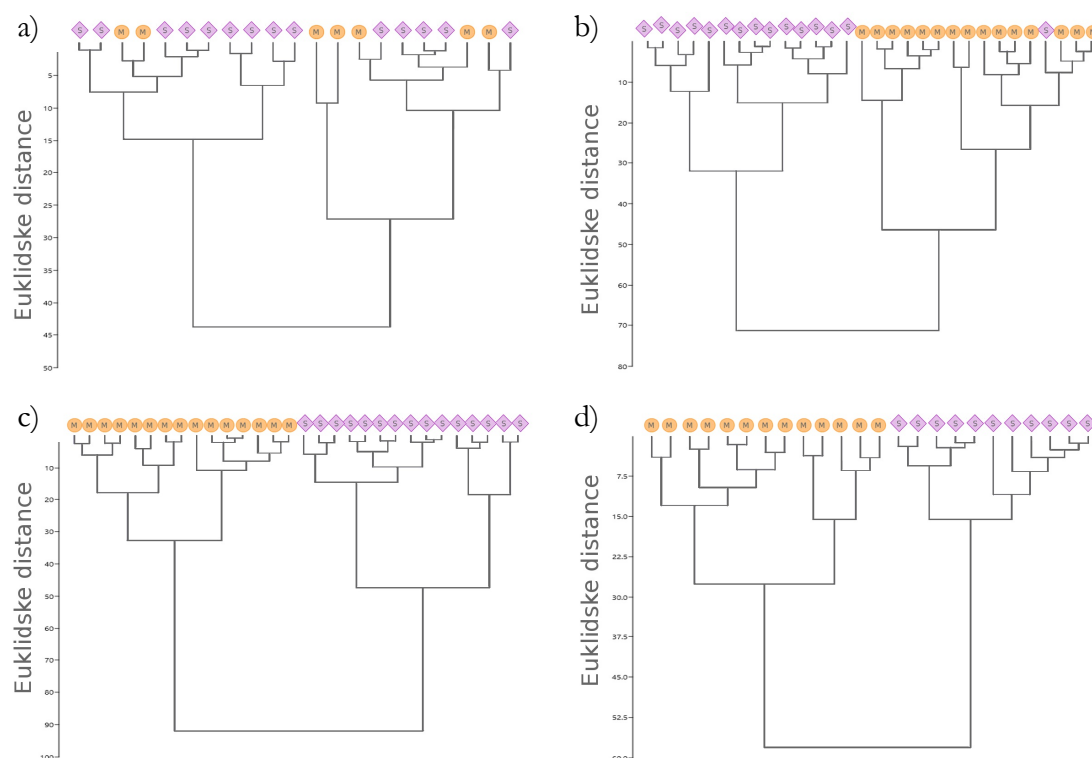
Tabela 4.3.4.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 17 nekoreliranih *n*-alkana zajedno sa *N* i *d* vrednosti kod svih proučavanih simpatrijskih populacija *S. montana* i *S. subspicata*

	F	P	Divača		Jadranovo		Zlobin		Gacko	
			<i>variegata</i> n=7	<i>liburnica</i> n=14	<i>montana</i> n=15	<i>liburnica</i> n=15	<i>montana</i> n=15	<i>liburnica</i> n=15	<i>montana</i> n=14	<i>subspicata</i> n=10
C19	18.0	***	0.2±0.2	0.1±0.1	– ^a	– ^a	–	0.1±0.0	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a
C20	11.07	***	0.2±0.2 ^a	0.2±0.1 ^a	– ^a	– ^a	0.2±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a
C21	3.586	***	0.6±0.8	0.2±0.1	0.4±0.2 ^a	0.2±0.4 ^a	0.3±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a
C22	3.918	***	0.5±0.6	0.2±0.1	0.4±0.1 ^a	0.2±0.4 ^a	0.3±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a
C23	4.337	***	0.7±0.8	0.2±0.1	0.5±0.2 ^a	0.3±0.6 ^a	0.3±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a
C24	3.119	***	0.8±1.1	0.2±0.1	0.3±0.1 ^a	0.3±0.6 ^a	0.3±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a
C25	8.06	***	0.8±0.9	0.2±0.1	1.1±0.4 ^a	0.7±0.5 ^a	0.4±0.1 ^a	0.3±0.1 ^a	0.6±0.3 ^a	0.9±0.7 ^a
C26	10.38	***	1.2±1.1	0.2±0.1	0.8±0.3 ^a	0.4±0.5 ^a	0.3±0.1 ^a	0.3±0.1 ^a	0.3±0.1 ^a	0.6±0.2 ^a
C27	31.46	***	3.9±2.6	1.4±0.5	9.8±2.4	4.1±1.7	4.1±1.4 ^a	2.7±1.0 ^a	5.3±1.3 ^a	6.7±2.8 ^a
C28	15.0	***	2.8±1.6	1.2±0.2	3.0±0.6	1.9±0.7	1.6±0.3 ^a	1.5±0.6 ^a	1.4±0.4	2.3±0.3
C29	11.36	***	41.5±4.9 ^a	41.0±5.3 ^a	40.5±10.0 ^a	42.3±7.1 ^a	28.6±4.7	46.1±9.9	36.0±5.3	50.3±2.8
C30	32.0	***	4.8±1.4 ^a	5.6±0.7 ^a	2.9±0.5	4.8±0.8	3.0±0.7	5.4±1.0	2.9±0.4	4.7±0.7
C31	20.44	***	32.5±9.0	41.5±4.5	23.1±3.7	35.7±4.8	28.7±2.2 ^a	33.4±6.7 ^a	37.4±4.2	28.5±2.6
C32	7.4	***	2.9±1.1 ^a	2.2±0.4 ^a	2.0±0.7 ^a	2.2±0.9 ^a	2.6±0.3	1.8±0.6	1.9±0.4 ^a	1.2±0.2 ^a
C33	36.45	***	6.4±3.0 ^a	5.4±1.8 ^a	12.2±5.5	6.3±2.5	25.2±6.8	6.7±3.7	12.8±5.2	3.9±1.2
C34	65.45	***	– ^a	0.1±0.0 ^a	0.5±0.2	0.2±0.2	1.4±0.2	0.5±0.3	0.3±0.2 ^a	0.1±0.0 ^a
C35	53.23	***	– ^a	0.1±0.1 ^a	0.8±0.4	0.2±0.2	2.7±0.8	0.5±0.4	0.5±0.6 ^a	0.1±0.0 ^a
<i>N</i>	14.06	***	28.4±1.4	29.7±0.2	28.0±0.5	29.2±0.9	28.8±0.3 ^a	29.3±0.2 ^a	29.5±0.2 ^a	28.9±0.4 ^a
<i>d</i>	10.84	***	5.4±5.6	1.7±0.2	6.5±2.7	3.0±3.1	6.3±0.9	2.3±0.8	2.9±0.7 ^a	2.4±0.8 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^a grupa je prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli *n*-alkana su dati kao srednja vrednost ± SD; *** $P < 0,01$;

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 17 alkana i Euklidskim distancama, (*Ward*-ova metoda) je pokazala uglavnom odvajanje između jedinki prema pripadnosti vrsti (Slika 4.3.4.2). Iako je odvajanje između takosna slabo na osnovu pojedinih komponenti, na osnovu ukupne varijabilnosti svih komponenti dobija se jasno odvajanje. Jedino na lokalitetima Divača dolazi do mešanja jedinki u zavisnosti od količine C_{29} i Jadranovo zbog količine C_{33} .



Slika 4.3.4.2. Hijerarhijska klaster analiza 17 *n*-alkana; Euklidske distance (*Ward*-ova metoda); M- *S. montana*; S- *S. subspicata*; a) Divača; b) Jadranovo; c) Zlobin; d) Gacko

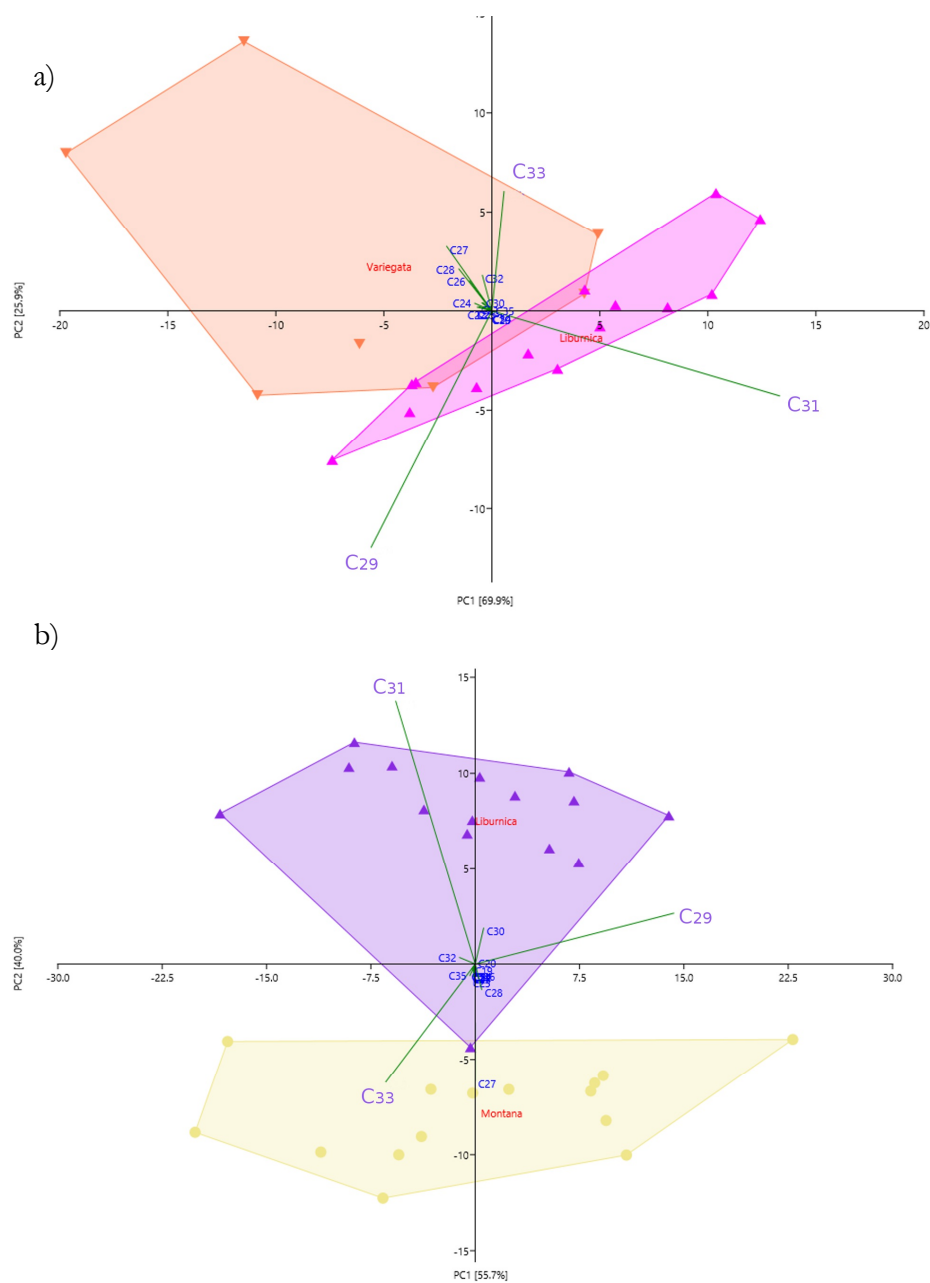
Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost sastava proučavanih 17 alkana kod 105 individua je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose PCA kod vrsta sa lokliteta Divača i Jadranovo objašnjavaju oko 96 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.3.4.3). Vrste se odvajaju na osnovu većih količina C_{27} i C_{33} kod *S. montana* dok su kod *S. subspicata* veće količine C_{29} i C_{31} . Međutim, dolazi do manjeg preklapanja tri jedinke vrste *S. subspicata* i jedne jedinke *S. montana* na lokalitetu Divača i jedne jedinke *S. subspicata* na lokalitetu Jadranovo, koje imaju intermedijerne količine pomenuta 4 alkana. Na lokalitetu Zlobin prve dve ose objašnjavaju oko 99% ukupne varijabilnosti, pri čemu se jedinke vrste *S. montana* jasno odvajaju po većoj količini C_{33} od vrste *S. subspicata* koje se i dalje odvajaju po većim količinama C_{29} i C_{31} . Simpatrijske vrste sa lokaliteta Gacko se diferenciraju na osnovu većih količina C_{29} kod jedinki vrste *S. subspicata*, ali i većim količinama C_{31} i C_{33} kod vrste *S. montana* (prve dve ose objašnjavaju oko 96% ukupne varijabilnosti).

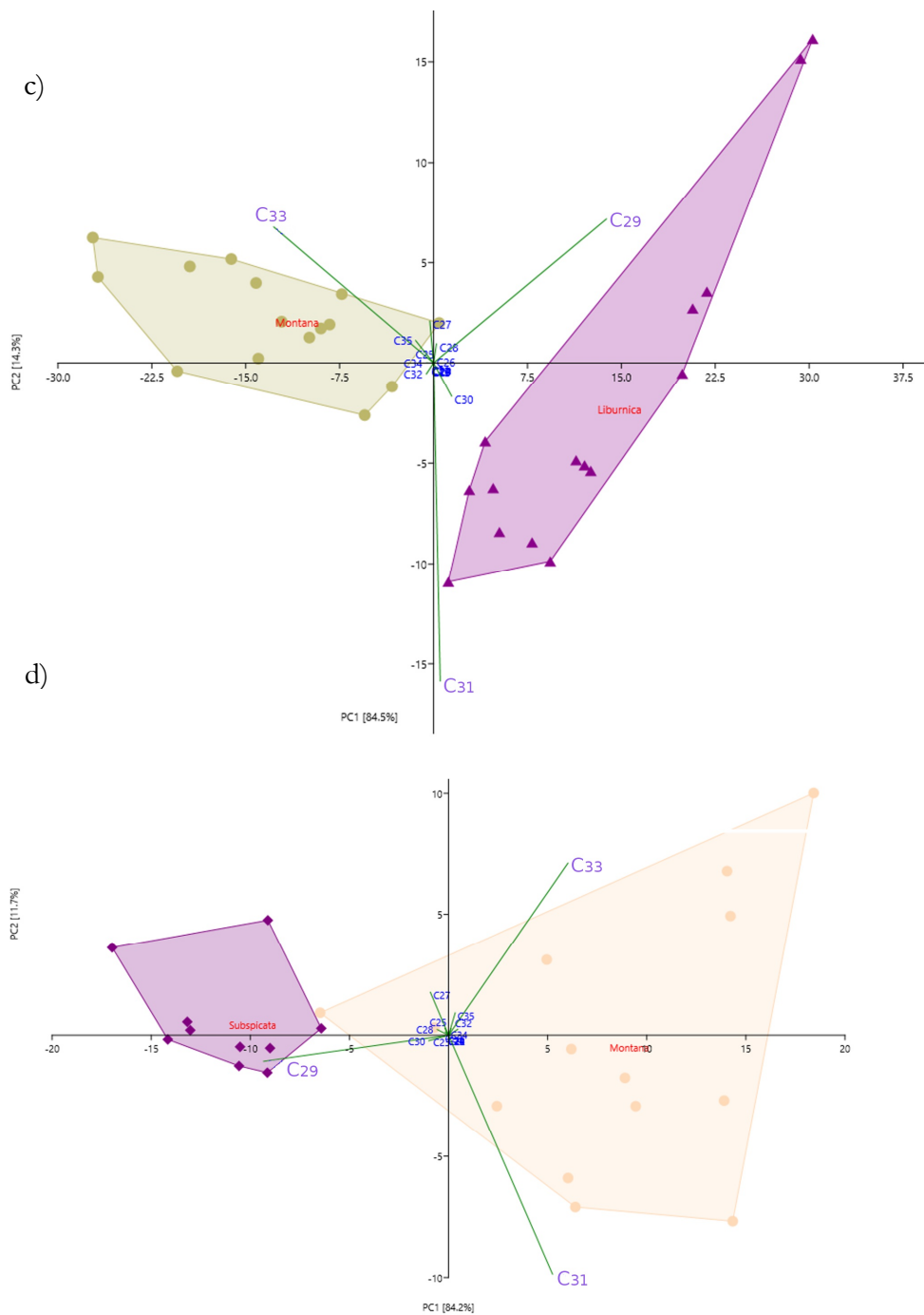
Tabela 4.3.4.2. Udeo 17 *n*-alkana u prva tri vektora

	Divača			Gacko			Jadranovo			Zlobin		
	PC 1	PC 2	PC 3	PC 1	PC 2	PC 3	PC 1	PC 2	PC 3	PC 1	PC 2	PC 3
C19	0.00	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20	0.00	-0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05
C21	-0.03	0.03	0.26	0.00	0.01	0.00	-0.01	-0.02	0.01	-0.01	0.00	0.05
C22	-0.03	0.01	0.18	0.00	0.00	0.00	-0.01	-0.02	0.01	-0.01	0.00	0.05
C23	-0.04	0.01	0.24	0.00	0.00	0.01	-0.01	-0.03	0.02	0.00	0.00	0.05
C24	-0.05	0.03	0.32	0.00	0.00	0.01	-0.01	-0.02	0.04	0.00	0.00	0.03
C25	-0.05	0.01	0.26	-0.01	0.02	0.18	-0.01	-0.04	0.08	0.00	0.00	0.06
C26	-0.07	0.10	-0.06	-0.01	0.01	0.05	-0.01	-0.04	0.07	0.00	0.00	0.03
C27	-0.14	0.22	-0.67	-0.07	0.14	0.79	0.00	-0.37	0.67	-0.02	0.11	0.69
C28	-0.10	0.14	-0.26	-0.05	0.02	0.03	0.03	-0.08	0.11	0.01	0.05	0.08
C29	-0.38	-0.81	-0.08	-0.75	-0.09	-0.39	0.85	0.16	-0.27	0.73	0.38	-0.41
C30	-0.03	0.03	-0.31	-0.08	-0.02	-0.10	0.04	0.11	-0.05	0.08	-0.09	-0.03
C31	0.90	-0.29	-0.13	0.42	-0.80	-0.10	-0.34	0.82	0.07	0.03	-0.84	-0.30
C32	-0.03	0.12	0.10	0.04	0.02	-0.02	-0.07	0.02	-0.02	-0.03	-0.03	0.08
C33	0.04	0.41	0.14	0.49	0.57	-0.39	-0.38	-0.37	-0.67	-0.67	0.36	-0.48
C34	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.01	-0.03	0.00	0.09
C35	0.00	0.00	0.00	0.03	0.07	-0.07	-0.02	-0.04	-0.05	-0.08	0.06	-0.05

masnim slovima su označene komponente koje odvajaju populacije



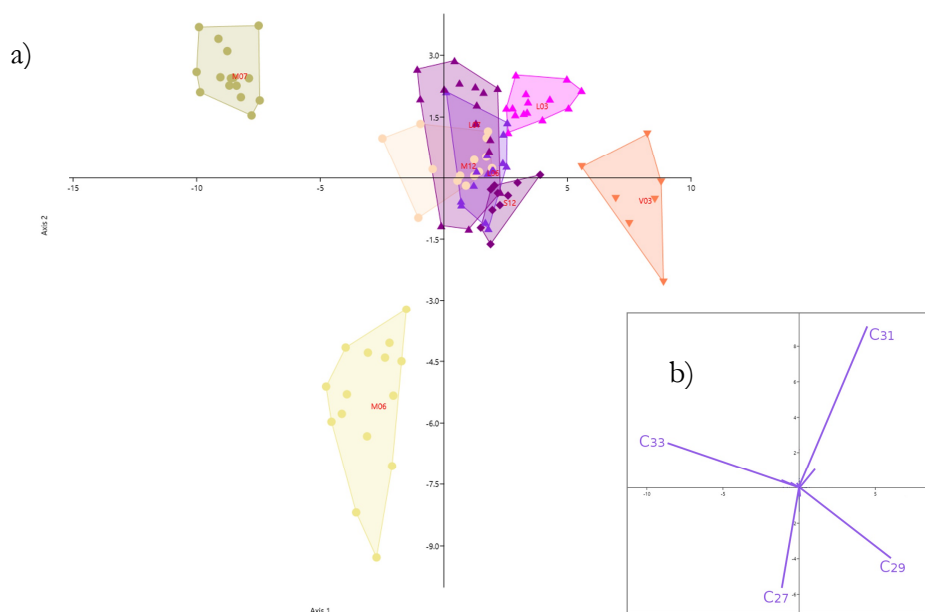
Slika 4.3.4.3. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) simetrijskih populacija
 a) Divača: ▲ *S. subspicata* i ▼ *S. montana*; b) Jadranovo: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*;



nastavak slike 4.3.4.3. c) Zlobin: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*; d) Gacko: ◆ *S. subspicata* i ● *S. montana*

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 49%, druga oko 29 % a treća oko 21 % ukupne varijabilnosti kada su u pitanju simpatrijske populacije. Diskriminantna analiza je uspela da odvoji sve vrste iz simpatrijskih populacija (Slika 4.3.4.4). Matrica konfuzije *Matriks* je smestila skoro sve individue u odgovarajuće grupe (Tabela 4.3.4.3). DA sa simpatrijskim populacijama je pokazala jasno odvajanje između taksona (Slika 4.3.4.5).



Slika 4.3.4.4. Scatter plot diskriminatne analize svih simpatrijskih populacija

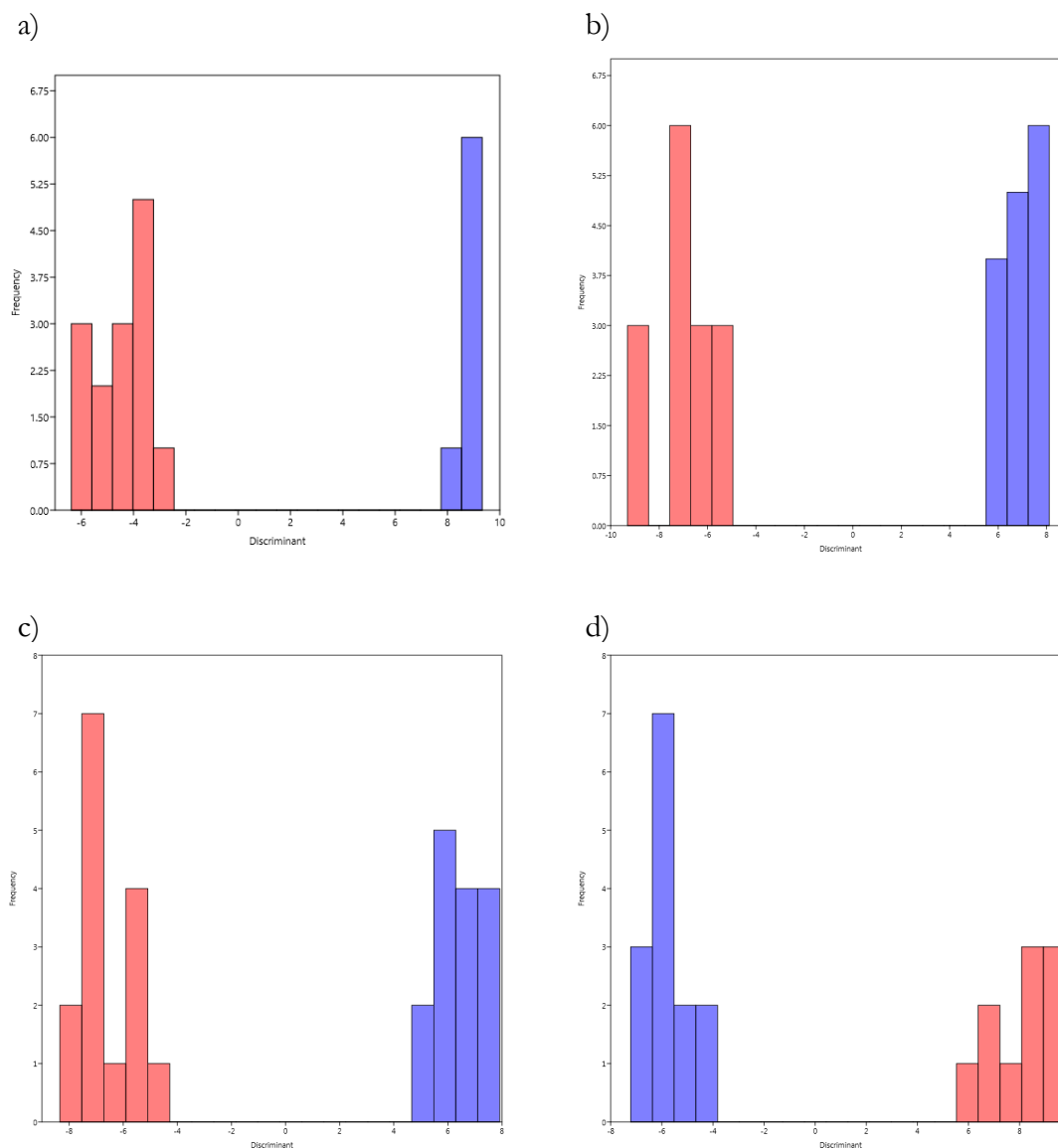
a) populacije; b) glavne komponente;

Divača: ▲ *S. subspicata* i ▼ *S. montana*; Jadranovo: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*;
Zlobin: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*; Gacko: ◆ *S. subspicata* i ● *S. montana*

Tabela 4.3.4.3. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, simpatrijske populacije *S. montana* i *S. subspicata* kao grupe

		Divača		Gacko		Jadranovo		Zlobin		Σ
		M	S	M	S	M	S	M	S	
I	M	7	0	0	0	0	0	0	0	7
	S	0	13	0	0	0	1	0	0	14
II	M	0	0	14	0	0	0	0	0	14
	S	0	0	0	10	0	0	0	0	10
III	M	0	0	0	0	15	0	0	0	15
	S	0	1	0	0	0	12	2	0	15
IV	M	0	0	1	0	0	0	14	0	15
	S	0	0	0	0	0	0	0	15	15
Σ		7	14	15	10	15	13	16	15	105

I-Divača; II-Gacko; III-Jadranovo; IV-Zlobin; M- *S. montana*; S- *S. subspicata*

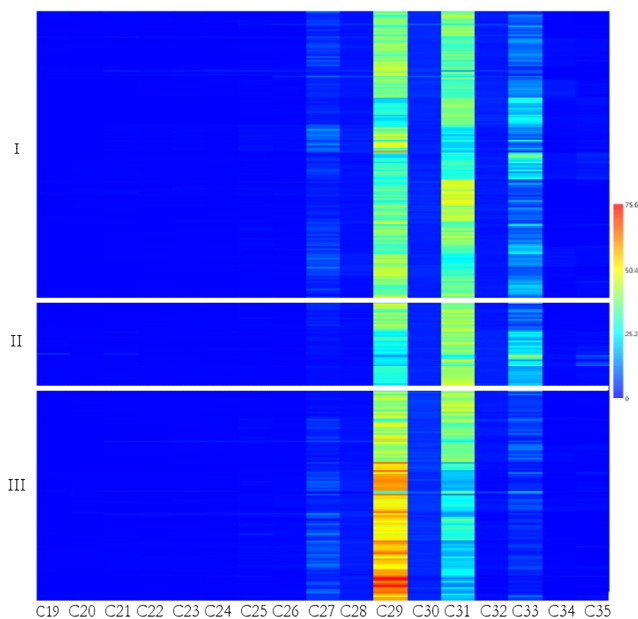


Slika 4.3.4.5. Histogram diskriminatne analize 17 *n*-alkana i svih parova simpatrijskih populacija, *S. montana* i *S. subspicata*; a) Divača; b) Jadranovo; c) Zlobin; d) Gacko;

4.3.5. Diferencijacija svih proučavanih taksona na osnovu *n*-alkana

Univarijantne analize

Matriks plot pokazuje da su dominantna dva alkana C_{29} i C_{31} kod svih vrsta a dva su pristuna kod nekih vrsta u većim količinama C_{27} i C_{33} (Slika 4.3.5.1).



Slika 4.3.5.1. Matriks plot sve tri vrste
I-*S. montana*; II-*S. kitaibelii*; III-*S. subspicata*;

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svim proučavanim vrstama (Tabela 4.3.5.1). Pokazano je statistički značajno razlikovanje između sve tri vrste na osnovu 12 od 17 *n*-alkana, kao i (*N*) i (*d*) vrednostima. Međutim konzervativnija *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$) je pokazala odvajanje sva tri taksona samo na osnovu 5 od tih 12 alkana i to C_{29} , C_{31} , C_{32} , C_{33} i C_{35} . Na osnovu ostalih alkana se mogu razlikovati parovi vrsta. Najviše se razlikuje vrsta *S. kitaibelii* na osnovu dodatnih 5 alkana (C_{19} i C_{25-28}), *S. subspicata* se dodatno razlikuje po količini C_{30} i C_{34} od druge dve. Izvedene vrednosti (*N*) i (*d*) pokazuju diferencijaciju *S. subspicata* i to od *S. kitaibelii* na osnovu (*N*) vrednosti, dok (*d*) vrednost pokazuje odvajanje od ostalih vrsta.

Tabela 4.3.5.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 17 nekoreliranih *n*-alkana zajedno sa *N* i *d* vrednostima kod svih proučavanih vrsta

	F	P	<i>S. montana</i> n=157	<i>S. kitaibelii</i> n=45	<i>S. subspicata</i> n=114
C19	9.8	***	0.1±0.1 ^a	0.3±0.5	0.1±0.1 ^a
C20	1.6	-	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a
C21	1.2	-	0.2±0.3 ^a	0.3±0.4 ^a	0.2±0.3 ^a
C22	1.4	-	0.2±0.2 ^a	0.2±0.1 ^a	0.2±0.2 ^a
C23	0.3	-	0.2±0.3 ^a	0.2±0.1 ^a	0.3±0.3 ^a
C24	0.8	-	0.2±0.3 ^a	0.2±0.1 ^a	0.3±0.3 ^a
C25	4.1	**	0.5±0.4 ^a	0.4±0.2	0.5±0.4 ^a
C26	5.6	***	0.5±0.4 ^a	0.3±0.1	0.5±0.4 ^a
C27	25.6	***	4.8±2.6 ^a	1.9±1.0	4.8±2.9 ^a
C28	33.6	***	1.9±0.8 ^a	1.1±0.4	2.2±0.8 ^a
C29	159.5	***	35.4±6.9	29.9±7.9	51.4±10.3
C30	46.6	***	3.5±0.8 ^a	3.3±0.4 ^a	4.5±1.2
C31	43.9	***	34.4±7.2	39.3±4.8	27.6±9.4
C32	69.5	***	2.5±0.8	2.8±0.7	1.5±0.9
C33	97.4	***	13.7±6.9	17.6±8.2	5.1±2.9
C34	24.6	***	0.7±0.7 ^a	0.6±0.4 ^a	0.3±0.3
C35	23.5	***	0.8±0.8	1.5±2.0	0.3±0.4
<i>N</i>	8.2	***	29.1±0.7 ^{ab}	29.4±0.6 ^a	28.9±0.7 ^b
<i>d</i>	12.8	***	3.9±2.0 ^a	4.1±2.8 ^a	2.7±2.1

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b} grupe na osnovu *post-hoc* testa ($P < 0,05$); Udeli *n*-alkana su dati kao srednja vrednost \pm SD; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$;

ANOVA sa 6 taksona kao grupama je dala manje-više iste rezultate samo možda pojačanije rezolucije u odnosu na ANOVA sa vrstama (Tabela 4.3.5.2). Isti alkani i (*N*) i (*d*) vrednosti su se pokazali značajni za diferencijaciju svih taksona ali je *post-hoc* test dao ipak drugačiju sliku. Ne postoji ni jedan karakter koji u potpunosti odvajaju sve taksona. Uočava se trend da se podvrste *S. subspicata* odvajaju od ostalih i da se *S. kitaibelii* odvajaju najviše od ssp. *variegata* a manje od tipske *S. montana* i još manje od ssp. *pisidica*. *C*₂₈ i *C*₃₂ odvajaju *S. subspicata* ssp. *subspicata* od ostalih taksona, a *C*₃₀ odvajaju *S. subspicata* ssp. *liburnica*. Parametri (*N*) i (*d*) su imali mnogo manju rezoluciju.

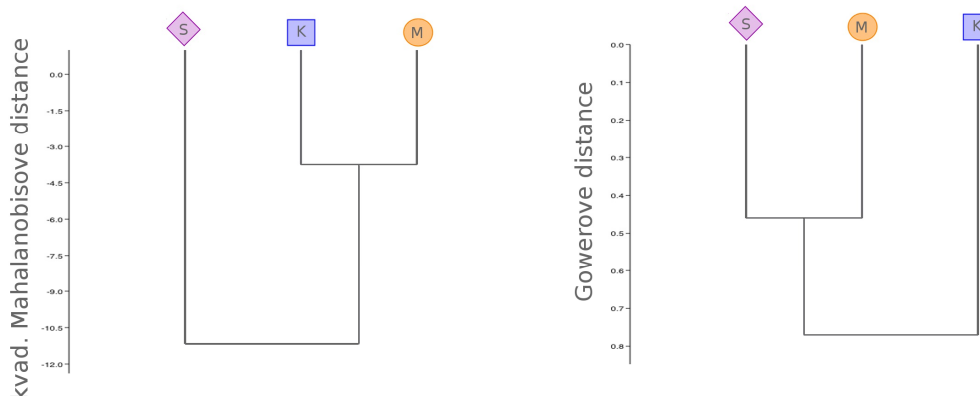
Tabela 4.3.5.2. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 17 nekoreliranih *n*-alkana zajedno sa *N* i *d* vrednostima kod svih proučavanih taksona

	F	P	<i>variegata</i> n=62	<i>montana</i> n=82	<i>pisidica</i> n=13	<i>kitaibelii</i> n=45	<i>liburnica</i> n=70	<i>subspicata</i> n=44
C19	5.1	***	0.1±0.2 ^{abc}	0.1±0.1 ^{ab}	0.1±0.0 ^{ab}	0.3±0.5 ^{ac}	0.1±0.1 ^{ab}	0.1±0.1 ^{abc}
C20	1.5	-	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a
C21	1.3	-	0.2±0.4 ^a	0.3±0.2 ^a	0.1±0.0 ^a	0.3±0.4 ^a	0.2±0.3 ^a	0.2±0.2 ^a
C22	1.3	-	0.2±0.3 ^a	0.2±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a	0.2±0.1 ^a	0.2±0.3 ^a	0.2±0.2 ^a
C23	1.3	-	0.2±0.3 ^a	0.3±0.2 ^a	0.1±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.3±0.4 ^a	0.2±0.2 ^a
C24	1.2	-	0.3±0.4 ^a	0.2±0.2 ^a	0.1±0.0 ^a	0.2±0.1 ^a	0.3±0.4 ^a	0.3±0.2 ^a
C25	4.5	***	0.4±0.4 ^{abc}	0.6±0.4 ^{abc}	0.3±0.2 ^{ab}	0.4±0.2 ^{ab}	0.5±0.4 ^{abc}	0.6±0.4 ^{ac}
C26	4.7	***	0.5±0.5 ^{acde}	0.5±0.3 ^{acde}	0.2±0.1 ^{bcd}	0.3±0.1 ^{abcd}	0.4±0.4 ^{abcde}	0.6±0.3 ^{ade}
C27	23.4	***	4.2±1.9 ^{abe}	5.5±3.0 ^{abf}	3.4±1.4 ^{acde}	1.9±1.0 ^{cd}	3.7±2.5 ^{ace}	6.6±2.5 ^{bf}
C28	23.4	***	2.0±0.8 ^a	2.0±0.8 ^a	1.1±0.3 ^b	1.1±0.4 ^b	1.9±0.8 ^a	2.6±0.5
C29	82.5	***	35.1±6.8 ^{abc}	35.5±7.4 ^{ab}	36.8±4.6 ^{ab}	29.9±7.9 ^{ac}	47.4±9.8	57.8±7.5
C30	40.4	***	4.0±0.9 ^{ad}	3.3±0.7 ^{bcd}	2.9±0.4 ^{bc}	3.3±0.4 ^{bcd}	5.0±1.1	3.8±0.9 ^{abd}
C31	30.8	***	34.9±4.9 ^{abc}	33.6±8.8 ^{ab}	36.1±3.6 ^{abc}	39.3±4.8 ^{ac}	31.4±9.4 ^{ab}	21.5±5.4
C32	50.4	***	2.9±0.9 ^a	2.2±0.5 ^b	2.1±0.5 ^b	2.8±0.7 ^a	1.8±1.0 ^b	0.9±0.4
C33	40.1	***	13.3±6.5 ^{ab}	13.9±7.5 ^{abc}	15.3±3.9 ^{abc}	17.6±8.2 ^{bc}	5.9±3.2 ^d	3.9±1.9 ^d
C34	13.2	***	0.9±0.8 ^{ab}	0.7±0.6 ^{abc}	0.4±0.1 ^{bcd}	0.6±0.4 ^{abc}	0.3±0.3 ^{bcd}	0.2±0.2 ^{cd}
C35	10.2	***	0.6±0.5 ^{ab}	0.9±1.0 ^{abc}	0.9±0.6 ^{abc}	1.5±2.0 ^{bc}	0.4±0.5 ^{ab}	0.3±0.4 ^{ab}
<i>N</i>	7.4	***	29.2±0.8 ^{abc}	29.0±0.7 ^{abd}	29.7±0.3 ^{ac}	29.4±0.6 ^{abc}	29.1±0.8 ^{abd}	28.7±0.5 ^{bd}
<i>d</i>	6.2	***	3.7±2.0 ^{abcde}	4.2±2.1 ^{abc}	2.9±0.6 ^{abcde}	4.1±2.8 ^{abcd}	2.7±2.4 ^{acde}	2.6±1.4 ^{ade}

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli *n*-alkana su dati kao srednja vrednost ± SD;

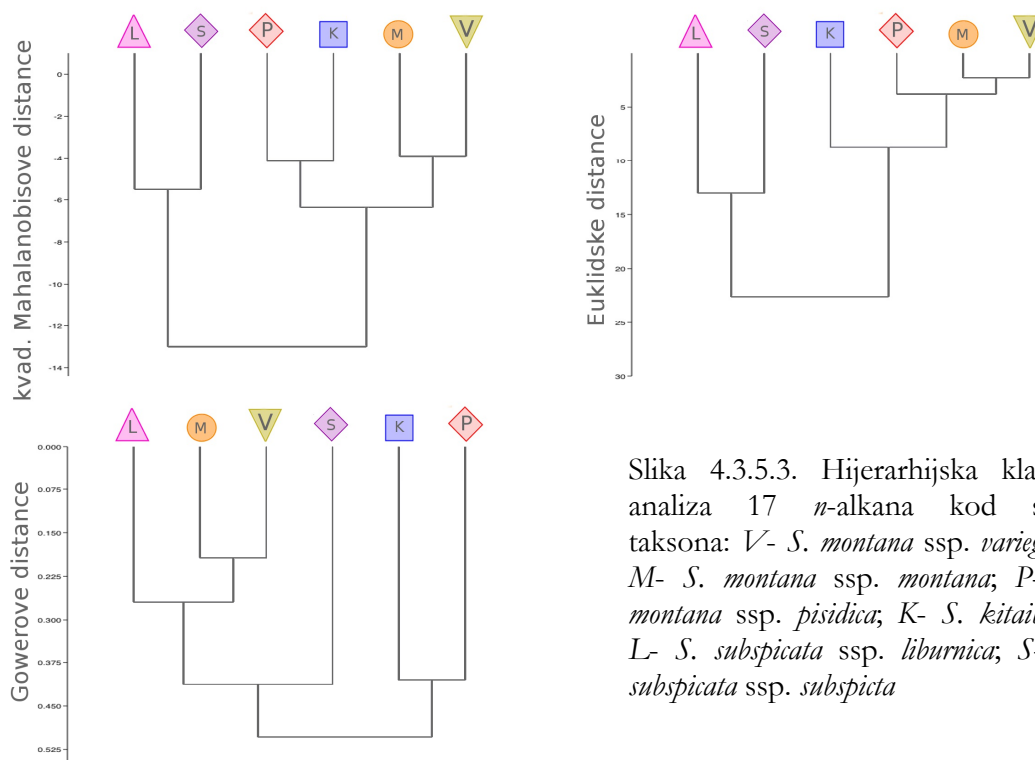
Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 17 alkana i svih proučavanih vrsta je pokazala iste rezultate na različitim distancama, kvadriranim Mahalanobisovim i Euklidskim, izuzetak su Gower-ove distance (Slika 4.3.5.2). Pokazale su bliže grupisanje vrsta *S. montana* i *S. kitaibelii* u odnosu na *S. subspicata*, dok su Gowerove pokazale da su *S. subspicata* i *S. montana* srodnije.



Slika 4.3.5.2. Hijerarhijska klaster analiza 17 *n*-alkana kod svih vrsta; M- *S. montana*; K- *S. kitaibelii*; S- *S. subspicata*

HCA sa 6 taksona je dala slične rezultate za kvadrirane Mahalanobisove i Euklidske distance. Iako različite topologije, u dva od tri kladograma se odvajaju dve podvrste *S. subspicata* od *S. montana* i *S. kitaibelii*, dok su se taksoni potpuno izmešali na Gowerovim distancama. U prvom slučaju, u drugoj kladi su *S. montana* ssp. *montana* i ssp. *variegata* sa jedne strane i *S. montana* ssp. *pisidica* i *S. kitaibelii* sa druge strane (Slika 4.3.5.3). U slučaju Euklidske distance se izdvaja *S. kitaibelii* a njoj je slična je *S. montana* ssp. *pisidica* a njima su slične preostale dve podvrste *S. montana*.



Slika 4.3.5.3. Hijerarhijska klaster analiza 17 *n*-alkana kod svih taksona: V- *S. montana* ssp. *variegata*; M- *S. montana* ssp. *montana*; P- *S. montana* ssp. *pisidica*; K- *S. kitaibelii*; L- *S. subspicata* ssp. *liburnica*; S- *S. subspicata* ssp. *subspicata*

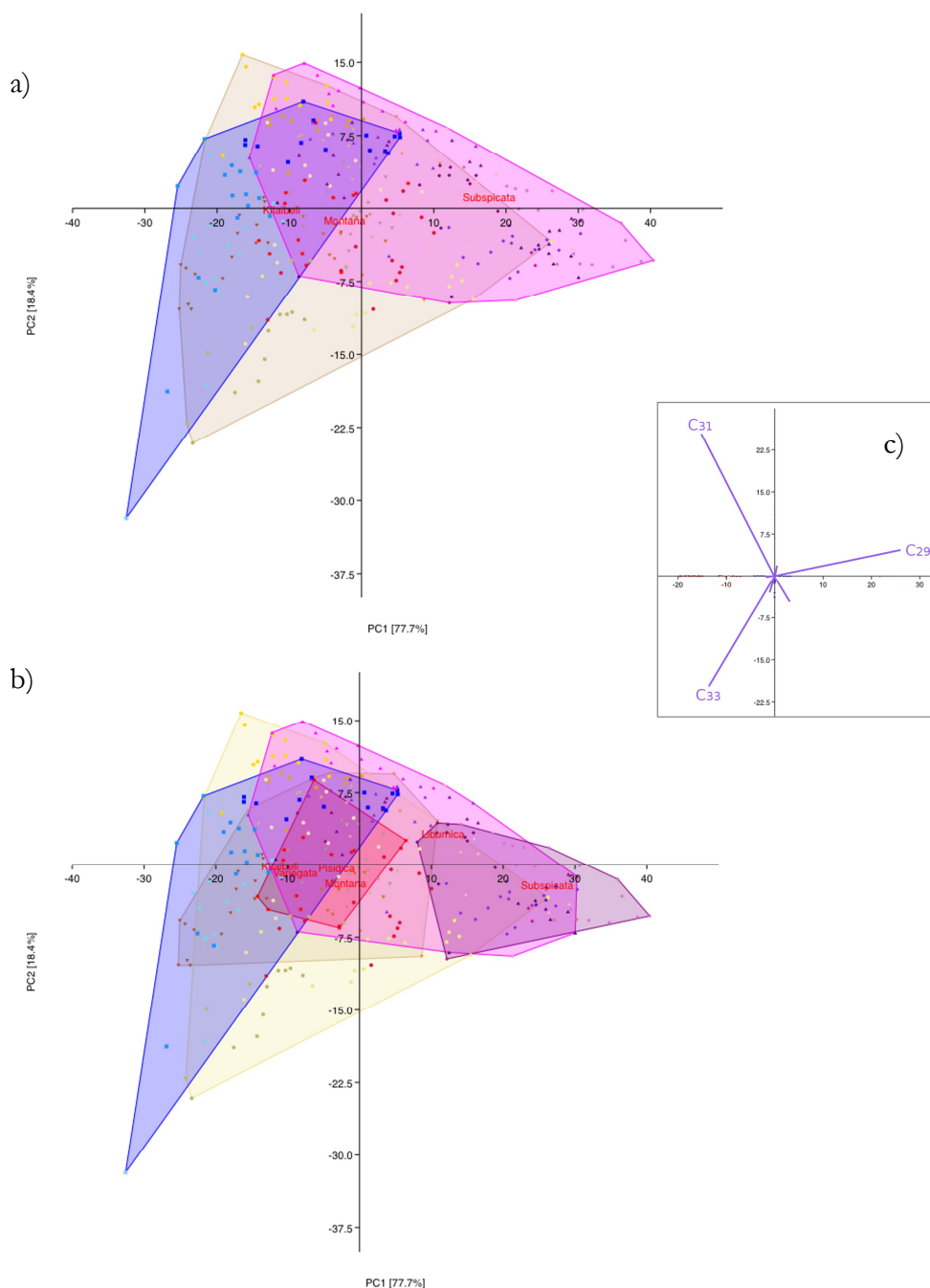
Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost sastava proučavanih 17 alkana kod 316 individua je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose PCA objašnjavaju oko 96 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.3.5.4). Analiza glavnih komponenti je pronašla 3, odnosno 4 alkana na prve dve ose odnosno na prve tri ose (C_{29} , C_{31} i C_{33}). Scatter plot pokazuje da je najveća varijabilnost kod vrste *S. montana*, ova varijabilnost prekriva ostale dve vrste, međutim, i *S. kitaibelii* i *S. subspicata* se delimično preklapaju. Vrsta *S. subspicata* se odvaja po većem udelu C_{29} i C_{31} u odnosu na C_{33} , dok se *S. kitaibelii* odvaja po većem udelu C_{33} i C_{31} u

odnosu na C₂₉. *S. montana* se ne odvaja ni po jednom alkanu. Kada se označe podvrste vidimo da se *S. subspicata* ssp. *subspicata* odvaja od ostalih po većim količinama C₂₉, a podvrsta *liburnica* na osnovu C₃₁, mada i ovde ima blagog preklapanja. Najveće preklapanje je između podvrsta *S. montana*, kao i sa vrstom *S. kitaibelii*. Iako scatter plot pokazuje preklapanje *S. kitaibelii* i *S. montana* ssp. *pisidica*, ne dolazi do preklapanja jedinki već jedinke *S. kitaibelii* delimično okružuju pomenutu podvrstu.

Tabela 4.3.5.3. Udeo 17 *n*-alkana u prva tri vektora

	PC 1	PC 2	PC 3
C19	0.00	0.00	0.00
C20	0.00	0.00	0.00
C21	0.00	-0.01	-0.03
C22	0.00	-0.01	-0.03
C23	0.00	-0.01	-0.04
C24	0.00	0.00	-0.03
C25	0.01	-0.01	-0.08
C26	0.01	-0.01	-0.08
C27	0.09	-0.14	-0.69
C28	0.04	-0.03	-0.14
C29	0.79	0.14	0.45
C30	0.02	0.06	0.00
C31	-0.45	0.77	0.18
C32	-0.05	-0.01	-0.02
C33	-0.41	-0.60	0.49
C34	-0.01	-0.04	0.01
C35	-0.03	-0.09	0.10



Slika 4.3.5.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) a) vrste

b) svi taksoni; c) glavne komponente;

S. montana: ssp. *variegata*: ▴ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Zvornik; ● Neretva; ● Gacko; ● Mokrine; ssp. *pisidica*: * Galičica;
S. kitaibelii: ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; *S. subspicata*: ssp. *liburnica*: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đeverske; ssp. *subspicata* ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice; ◆ Nikšić

Diskriminantna analiza (DA)

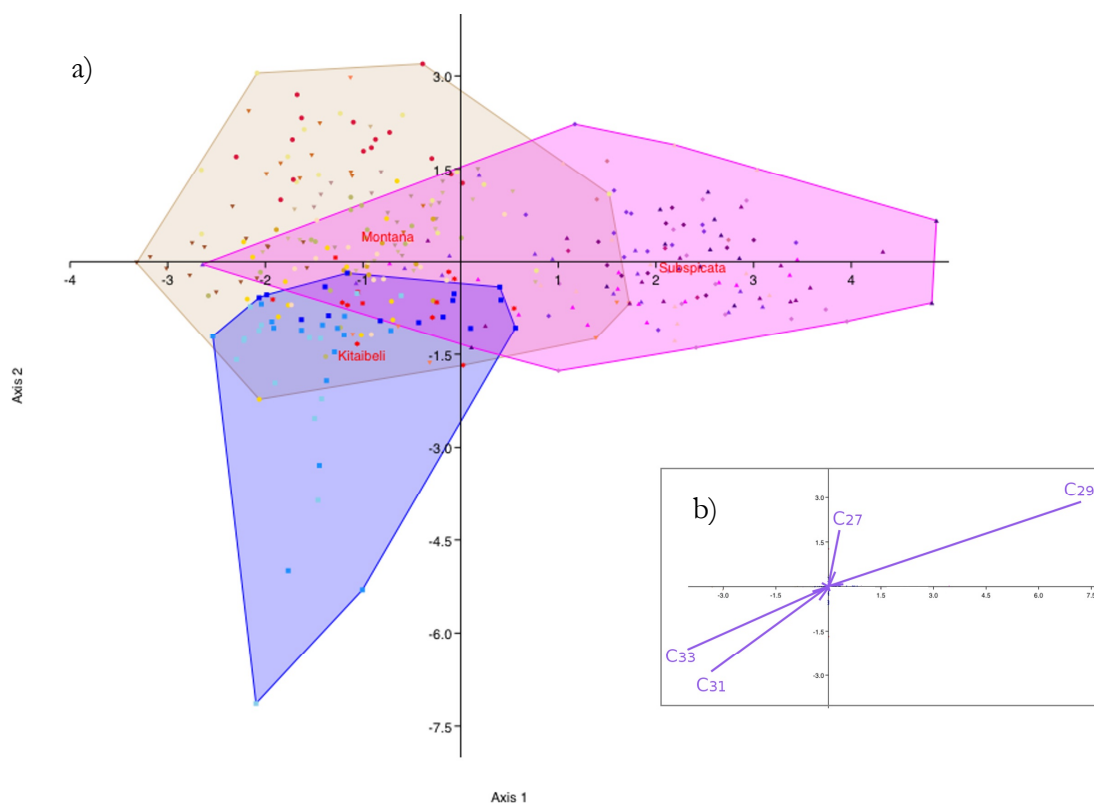
Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 84 % dok druga objašnjava oko 16 % ukupne varijabilnosti kada su u pitanju vrste. Diskriminantna analiza je uspjela da odvoji sve tri podvrste uz izvesno preklapanje (Slika 4.3.5.5). Preklapanje jedinki je mnogo veće između *S. montana* i *S. kitaibelii* nego između vrsta *S. subspicata* i *S. montana*. Međutim, vidi se tendencija odvajanja ove tri vrste i ogleda se u količinama 3 komponente, kao što je pokazala i analiza glavnih komponenti. C_{29} odvaja vrstu *S. subspicata*, dok C_{31} i C_{33} odvajaju *S. kitaibelii* i *S. montana*, pri čemu se *S. montana* dodatno odvaja po količini C_{27} . Matrica konfuzije je pokazala dosta prelaženja iz jedne u drugu grupu (Tabela 4.3.5.4). U druge dve grupe prelazi oko 25% *S. montana*, 20% *S. kitaibelii* i samo 10% *S. subspicata*. Dobijeni rezultati se slažu sa rezultatima HCA (Euklidske i kvadrirane Mahalanobisove distance).

Tabela 4.3.5.4. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, sve proučavane vrste su grupe

	<i>S. montana</i>	<i>S. kitaibelii</i>	<i>S. subspicata</i>	Σ
<i>S. montana</i>	125	25	7	157
<i>S. kitaibelii</i>	6	36	3	45
<i>S. subspicata</i>	9	2	103	114
Σ	140	63	113	316

Tabela 4.3.5.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, svi proučavani taksoni su grupe

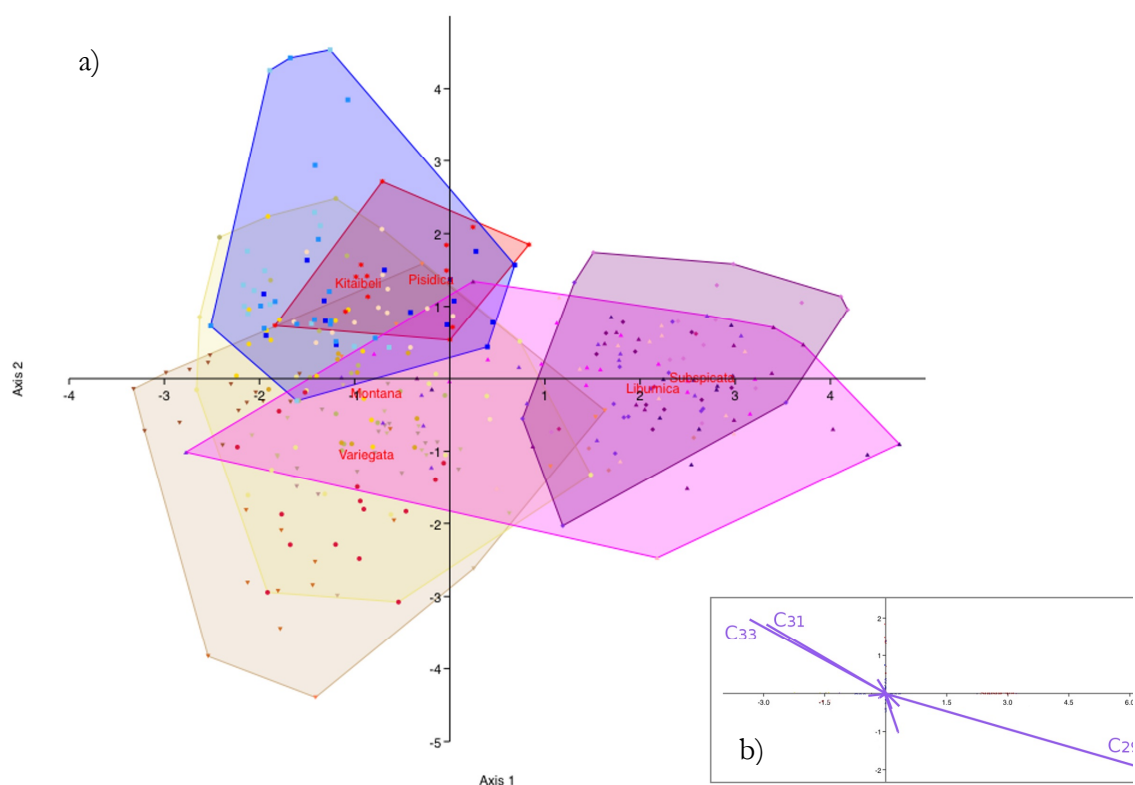
	<i>S. montana</i>			<i>S. kitaibelii</i>	<i>S. subspicata</i>		Σ
	ssp. <i>variegata</i>	ssp. <i>montana</i>	ssp. <i>pisidica</i>		ssp. <i>liburnica</i>	ssp. <i>subspicata</i>	
<i>S. montana</i>	46	10	0	3	2	1	62
ssp. <i>variegata</i>							
<i>S. montana</i>	12	48	12	9	0	1	82
ssp. <i>montana</i>							
<i>S. montana</i>	0	0	12	1	0	0	13
ssp. <i>pisidica</i>							
<i>S. kitaibelii</i>	1	2	8	32	2	0	45
<i>S. subspicata</i>	5	3	2	2	44	14	70
ssp. <i>liburnica</i>							
<i>S. subspicata</i>	0	0	0	0	8	36	44
ssp. <i>subspicata</i>							
Σ	64	63	34	47	56	52	316



Slika 4.3.5.5. Scatter plot diskriminantne analize (DA) sve vrste:

a) vrste b) glavne komponente; *S. montana*: ssp. *variegata*: ▴ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Zvornik; ● Neretva; ● Gacko; ● Mokrinc; ssp. *pisidica*: * Galičica; *S. kitaibelii*: ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; *S. subspicata*: ssp. *liburnica*: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đeverske; ssp. *subspicata* ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice; ◆ Nikšić

Diskriminantna analiza sa 6 taksona kao grupama je pokazala nešto bolje odvajanje (Slika 4.3.5.6). Prva diskriminantna osa objašnjava 59%, druga 14% a treća 13% ukupne varijabilnosti. Scatter plot pokazuje da se ssp. *subspicata* najviše odvaja od ostalih taksona iako se delimično preklapa sa ssp. *liburnica*. *S. subspicata* ssp. *liburnica* se preklapa sa pojedinim jedinkama ssp. *montana* i ssp. *variegata*, koje se i same dosta preklapaju. Vrsta *S. kitaibelii* se preklapa sa ssp. *pisidica* na prve dve ose. Alkani koji odvajaju taksone su isti oni koji odvajaju vrste. Matrica konfuzije je kao i u prethodnom slučaju pokazala dosta prelaženja iz jedne u drugu grupu (Tabela 4.3.5.5). Najviše jedinki ostaje u svojim grupama kod ssp. *pisidica* i ssp. *subspicata*, dok najviše jedinki prelazi kod ssp. *montana* i ssp. *variegata*, kao i kod ssp. *liburnica*, prelazi skoro 40% kod prve i 30% kod druge dve podvrste.



Slika 4.3.5.6. Scatter plot diskriminantne analize (DA) svi taksoni:

a) vrste b) glavne komponente;

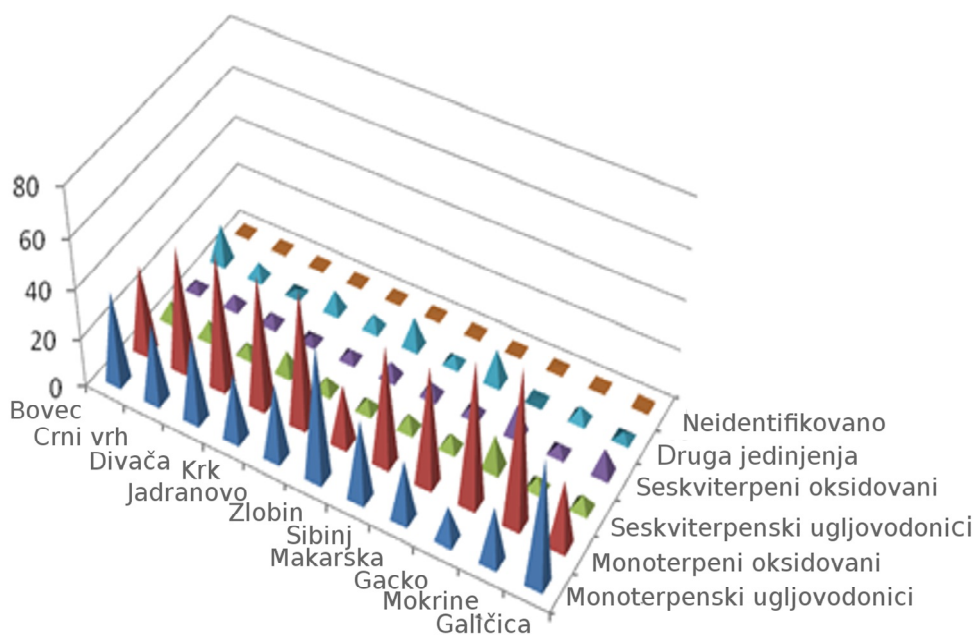
S. montana: ssp. *variegata*: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Zvornik; ● Neretva; ● Gacko; ● Mokrine; ssp. *pisidica*: * Galičica;
S. kitaibelii: ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; *S. subspicata*: ssp. *liburnica*: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đeverske; ssp. *subspicata* ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice; ◆ Nikšić

4.4. Terpeni

4.4.1.1. Hemijski sastav etarskog ulja *Satureja montana*

U etarskom ulju *S. montana* detektovano je 120 jedinjenja, od koji je 111 identifikovano. Međutim, po populaciji je u proseku detektovano između 34 do 56 jedinjenja, što predstavlja 93,0-97,8% ukupnog sastava etarskog ulja (Tabela 4.4.1.1.1, Prilog D1-2).

Dominantna grupa u sastavu etarskog ulja su monoterpeni (69,8-86,9%). Kod nekih populacija dominiraju oksidovani monoterpeni, dok kod drugih monoterpenski ugljovodonici, takođe, postoje i populacije gde su skoro podjednako zastupljene obe klase jedinjenja (Slika 4.4.1.1.1). Seskviterpeni su zastupljeni u znatno manjem procentu (8,2-10%), osim kod populacija Gacko i Galičica, gde su u nešto većem procentu (25% i 15%, redom).



Slika 4.4.1.1.1. Procentualna zastupljenost grupa jedinjenja u etarskom ulju kod *S. montana*

Tri monoterpena su bila dominantno zastupljena u svim populacijama, *p*-cimen, karvakrol i timol, jedino je u populaciji Gacko dominirao linalol. U nekim populacijama jedno od ova tri jedinjenja čini skoro 50% sastava ulja (populacija Zlobin, *p*-cimen 50%; Mokrine, karvakrol 45,8%). Odnos ovih komponenti se smenjivao u zavisnosti od populacije i jedinke.

Profili etarskog ulja na osnovu komponenti sa udelom preko 5%, u 11 populacija *S. montana* je bio sledeći:

Bovec: *p*-cimen (29,3%) >> karvakrol (16,7%) = karvakrol-metil etar (13%) = timol (9,1%)

Crni Vrh: karvakrol (38,8%) > *p*-cimen (24,6%)

Divača: karvakrol (41,8%) >> *p*-cimen (28,5%)

Krk: geranil acetat (41,7%) > gerniol (30,4%) = timol (29,3%) >> *p*-cimen (16,2%) = karvakrol (13,2%)

Jadranovo: karvakrol (36,9%) > *p*-cimen (25,6%) >> timol (5,3%)

Zlobin: *p*-cimen (50,2%) >> karvakrol (13,1%) = karvakrol-metil etar (10,1%)

Sibinj: karvakrol (35,2%) > *p*-cimen (27,5%)

Makarska: timol (25,5%) > *p*-cimen (16,5%) = timol metil etar (12,7%) = karvakrol (10,0%)

Gacko: geraniol (35,6%) > linalol (14,6%) > *cis*-sabinen (10,2%) = *a*-terpineol (7,3%) = kariofilen oksid (6,4%)

Mokrine: karvakrol (45,8%) >> *p*-cimen (19%) >> neral (7,1%)

Galičica: *p*-cimen (42%) >> timol (6,5%) = kariofilen oksid (5,6%) = borneol (5,1%)

Tabela 4.4.1.1.1. Sastav etarskog ulja izolovanog iz *S. montana*

		Bovec ^{a)}	Crni Vrh	Divača	Krk	Jadranovo	Zlobin	Sibinj	Makarska	Gacko	Mokrine	Galičica
		n=15	n=15	n=7	n=15	n=14	n=15	n=15	n=15	n=15	n=15	n=15
1	Triciklen	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
2	α -Tujen	0.4±0.2	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.2	tr	tr	tr	0.2±0.1	tr	tr	0.3±0.1
3	α -Pinen	0.5±0.2	1.0±0.9	0.5±0.2	0.4±0.3	0.5±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1	3.3±2.2	0.5±0.2	0.6±0.2
4	Kamfen	0.7±0.4	0.5±0.3	0.7±0.4	0.7±0.7	0.8±0.5	0.5±0.4	0.8±0.4	1.0±0.4	1.3±0.7	1.0±0.4	1.4±1.1
5	Tuja-2,4(10)-dien	-	-	tr	-	tr	tr	tr	tr	-	tr	tr
6	1-Okten-3-one	-	-	-	-	-	-	0.6±0.3	0.5±0.3	-	0.9±0.4	-
7	Sabinen	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9±0.5	-	tr-
8	β -Pinen	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3±0.1	-	-
9	1-Okten-3-ol	1.6±0.5	1.5±0.6	1.3±0.5	0.7±0.3	1.2±0.5	1.1±0.7	-	-	-	-	0.3±0.2
10	Mircen	0.4±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1	0.5±0.2	0.2±0.1	0.1±0.2	0.2±0.1	0.3±0.2	1.3±1.0	0.1±0.1	0.1±0.1
11	Dehidro-1,8-Cineol	-	-	-	-	-	-	-	-	1.9±0.9	-	-
12	3-Oktan-ol	tr	tr	-	-	-	-	-	0.1±0.0	-	-	-
13	Dehidroksi- <i>cis</i> -Linalol oksid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
14	α -Felandren	tr	tr	-	tr	-	-	-	tr	0.3±0.1	-	-
15	α -Terpinen	0.5±0.2	0.4±0.2	0.4±0.1	1.0±0.3	0.4±0.2	tr	0.3±0.1	0.6±0.4	0.4±0.3	0.2±0.1	0.4±0.3
16	<i>p</i> -Cimen	29.3±13.4	24.6±9.5	28.5±13.5	16.2±8.1	25.7±10.5	50.2±9.8	27.5±9.7	16.5±4.9	1.3±1.1	19.0±4.5	42.0±10.3
17	Limonen	0.4±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1	0.4±0.2	0.4±0.2	0.4±0.1	0.4±0.1	0.6±0.2	2.4±1.4	0.3±0.1	1.2±1.0
18	1,8-Cineol	0.5±0.2	0.2±0.1	0.5±0.3	0.3±0.1	0.4±0.2	0.5±0.3	0.7±0.6	0.6±0.3	-	0.7±0.3	1.6±0.9
19	<i>cis</i> - β -Ocimen	0.3±0.4	0.4±0.4	0.2±0.1	0.4±0.3	0.3±0.2	0.2±0.2	0.2±0.2	0.3±0.3	2.5±2.6	tr	0.5±0.4
20	<i>trans</i> - β -Ocimen	tr	0.1±0.1	tr	tr	tr	-	-	tr	0.8±0.7	tr	0.2±0.2
21	γ -Terpinen	3.7±1.3	2.6±1.3	1.9±0.5	5.7±2.1	1.4±1.1	0.4±0.4	1.5±1.0	3.2±3.3	0.8±0.5	0.6±0.4	2.5±1.8
22	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	0.9±0.2	1.1±0.3	0.9±0.2	0.8±0.2	0.3±0.2	0.2±0.1	0.2±0.1	0.4±0.2	10.2±9.4	0.4±0.8	1.2±1.7
23	<i>cis</i> -Linalol oksid (furanoid)	-	-	-	0.2±0.0	-	tr	-	-	2.4±1.5	0.5±1.0	0.5±0.4
24	Terpinolen	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	tr	-	-	0.4±0.4
25	Kamfenilon	-	-	0.2±0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
26	<i>trans</i> -Linalol oksid (furanoid)	-	-	-	0.1±0.0	-	tr	-	-	2.2±1.4	0.2±0.5	0.4±0.3
27	<i>trans</i> -Sabinen hidrat	0.3±0.0	0.4±0.1	0.4±0.1	0.2±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.0	0.2±0.0	1.7±1.0	0.2±0.2	0.4±0.4
28	Linalol	0.1±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.6	0.1±0.1	0.2±0.1	14.6±9.1	2.2±8.0	4.2±6.8
29	2-Metil butil-2-metil butirat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1±0.0	-
30	Okt-1-en-3-il acetat	-	-	-	-	-	0.1±0.1	-	-	-	-	-

nastavak tabele 4.4.1.1.1.

31 3-Oktanol acetat	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1±0.1	-	-
32 <i>α</i> -Kamfolenal	-	0.1±0.1	-	-	-	-	-	-	0.2±0.2	-	-
33 <i>trans</i> -Pinokarveol	0.1±0.0	0.2±0.1	0.1±0.0	tr	0.1±0.1	0.2±0.1	-	0.1±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
34 <i>trans</i> -Verbenol	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
35 Kamfor	0.2±0.1	0.4±0.3	0.3±0.1	0.2±0.2	0.2±0.2	0.2±0.2	0.2±0.1	0.3±0.2	1.7±1.0	0.3±0.1	0.7±0.5
36 Pinokarvon	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
37 Borneol	2.4±1.3	1.9±1.4	2.9±2.0	2.9±2.0	3.4±2.3	1.9±1.8	3.8±2.0	4.7±2.0	5.6±2.9	4.1±1.6	5.1±4.1
38 <i>cis</i> -Linalol oksid (piranoid)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7±0.4	0.3±0.0	0.2±0.1
39 <i>trans</i> -Linalol oksid (piranoid)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7±0.4	0.3±0.0	0.2±0.0
40 Terpinen-4-ol	0.4±0.0	0.5±0.1	0.7±0.1	0.4±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	3.2±2.5	1.0±1.2	1.0±1.5
41 <i>p</i> -Cimen-8-ol	1.0±0.7	0.7±0.4	1.4±0.7	0.5±0.4	0.8±0.3	1.7±0.7	0.9±0.4	0.5±0.1	0.2±0.1	0.6±0.2	2.6±0.8
42 <i>α</i> -Terpineol	0.2±0.0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.0	0.3±0.3	0.2±0.1	0.4±0.2	7.3±9.6	0.6±0.3	0.6±0.3
43 <i>cis</i> -Dihidro karvon	-	0.2±0.1	0.1±0.0	-	0.1±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.0	-	-	-
44 Mirtenol	tr	-	tr	tr	tr	tr	-	-	0.5±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1
45 <i>trans</i> -Dihidro karvon	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46 Verbenon	-	-	-	-	-	0.1±0.0	-	-	0.4±0.2	-	-
47 Izobornil format	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	0.2±0.1	tr	0.1±0.1
48 Nerol	-	-	-	2.6±0.0	-	-	-	-	1.6±0.7	-	-
49 Heksi 2-metilbutanoat	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	0.2±0.2
50 Timol metil etar	0.2±0.0	0.1±0.0	0.2±0.0	4.0±3.2	0.5±0.7	0.2±0.1	1.1±2.2	12.7±5.2	-	0.2±0.1	0.2±0.1
51 Kumin aldehid	0.2±0.2	0.1±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.4±0.2	tr	0.1±0.0	-	tr	0.5±0.3
52 Karvon	-	-	-	0.2±0.0	0.1±0.1	0.4±0.0	0.2±0.1	-	-	-	-
53 Neral	-	-	-	-	-	-	-	-	2.1±1.2	7.1±3.2	-
54 Karvakrol metil etar	13.0±8.0	4.6±5.9	0.2±0.2	1.0±1.4	4.4±4.9	10.1±6.8	2.9±3.1	1.0±1.2	-	4.1±4.5	3.3±2.9
55 Timokinon	2.6±2.6	3.4±2.1	2.5±1.8	1.5±1.4	3.5±2.0	2.1±2.2	2.9±1.9	3.0±2.1	-	2.3±1.5	0.8±0.7
56 Geraniol	-	-	-	30.4±0.0	-	-	-	-	35.6±5.9	-	-
57 Geranial	-	-	-	1.8±0.0	-	-	-	-	3.5±2.5	-	-
58 Neidentifikovano 2	0.1±0.0	0.1±0.1	-	-	-	0.1±0.0	-	-	-	-	-
59 Bornil acetat	-	-	tr	tr	tr	-	tr	tr	0.4±0.3	tr	tr
60 Timol	9.1±11.9	0.3±0.2	0.2±0.3	29.3±17.5	6.2±14.8	0.1±0.2	1.3±2.4	25.5±13.1	-	0.2±0.1	6.5±4.1
61 <i>p</i> -Cimen-7-ol	0.9±1.4	0.3±0.2	0.5±0.3	-	1.2±2.8	0.7±0.3	0.2±0.1	-	-	0.2±0.1	-
62 Karvakrol	16.7±13.0	38.8±11.4	41.8±15.4	13.2±12.6	36.9±16.3	13.1±10.6	35.2±13.7	10.0±10.0	-	45.8±9.0	2.0±3.9
63 Neidentifikovano 3	tr	0.4±0.2	0.8±0.3	0.2±0.1	0.8±0.3	1.1±0.8	0.8±0.6	0.8±0.5	-	1.5±0.5	0.3±0.0

nastavak tabele 4.4.1.1.1.

64	α -Ilangen	-	-	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	0.1±0.1	-
65	α -Kopaen	tr	0.1±0.0	tr	0.1±0.0	0.2±0.1	0.2±0.0	0.2±0.1	tr	-	0.1±0.0	tr
66	β -Bourbonen	0.2±0.1	0.1±0.1	0.2±0.0	tr	0.1±0.1	0.3±0.4	0.1±0.0	tr	1.5±0.9	0.1±0.0	0.2±0.1
67	Geranil acetat	-	-	-	41.7±0.0	-	-	-	-	-	-	-
68	β -Kubeben	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1±0.1
69	β -Elemen	-	-	-	tr	-	-	-	-	0.2±0.0	tr	-
70	α -Gurjunen	-	0.2±0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	(Z)-Kariofilen	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	-	-	0.1±0.1
72	(E)-Kariofilen	2.6±1.3	2.7±1.1	2.0±0.6	4.5±1.5	1.6±0.7	0.7±0.5	1.7±1.1	2.0±1.2	4.5±2.0	1.2±1.1	2.7±1.6
73	β -Kopaen	0.1±0.0	0.1±0.0	tr	tr	tr	tr	tr	0.2±0.2	0.2±0.1	tr	tr
74	α -Guaien	-	-	-	tr	0.2±0.3	-	-	-	-	tr	tr
75	Aromadendren	0.3±0.3	0.4±0.2	0.3±0.4	0.4±0.3	0.6±0.4	0.3±0.1	0.5±0.3	0.3±0.2	-	0.5±0.3	0.2±0.1
76	6,9-Guaiadien	-	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-
77	<i>cis</i> -Murola-3,5-dien	-	-	-	-	-	0.2±0.0	-	-	0.2±0.1	-	-
78	α -Humulen	0.1±0.0	tr	tr	0.2±0.0	tr	tr	0.1±0.0	tr	0.3±0.1	tr	0.1±0.1
79	alo-Aromadendren	tr	tr	tr	tr	tr	0.1±0.1	-	tr	-	-	0.1±0.1
80	<i>cis</i> -Kadina-1(6),4-dien	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
81	9- <i>epi</i> -(E)-Kariofilen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
82	γ -Murolen	0.3±0.2	0.3±0.1	0.3±0.1	0.4±0.2	0.4±0.2	0.3±0.1	0.6±0.2	0.2±0.1	-	0.2±0.1	0.2±0.1
83	Germakren D	0.4±0.3	-	-	0.4±0.4	tr	tr	0.1±0.1	0.1±0.1	4.0±1.5	-	0.4±0.3
84	β -Selinen	0.1±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1	tr	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.1	-	tr	tr
85	Biciklogermakren	-	-	-	2.1±0.0	-	-	-	-	1.5±1.5	-	0.6±0.5
86	Viridfloren	1.0±0.5	0.4±0.2	0.3±0.1	0.5±0.3	-	-	0.5±0.2	0.4±0.2	-	-	-
87	<i>cis</i> - β -Guaien	-	-	-	-	0.5±0.2	0.5±0.3	-	-	-	0.4±0.2	-
88	α -Murolen	1.0±0.7	0.3±0.5	tr	0.1±0.1	0.4±0.4	1.1±0.7	0.3±0.3	0.1±0.1	-	0.5±0.4	0.3±0.3
89	Germakren A	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2±0.1	-	-
90	β -Bisabolen	0.6±0.5	0.6±0.6	0.3±0.2	0.5±0.4	0.3±0.2	0.2±0.2	0.3±0.2	1.7±1.5	0.6±0.5	0.6±0.6	0.4±0.3
91	γ -Kadinen	0.3±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.5±0.1	0.3±0.1	0.4±0.3	0.2±0.1	0.2±0.1
92	<i>trans</i> -Kalamenen	-	-	-	-	-	0.2±0.1	-	-	0.6±0.4	0.2±0.1	-
93	δ -Kadinen	0.4±0.2	0.4±0.2	0.3±0.1	0.5±0.3	0.5±0.2	0.3±0.2	0.8±0.4	0.3±0.1	0.4±0.1	-	0.2±0.2
94	<i>trans</i> -Kadina-1,4-dien	-	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-
95	α -Kadinen	-	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-
96	α -Kalakoren	-	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-

nastavak tabele 4.4.1.1.1.

97 Elemol	-	-	-	-	-	-	-	-	1.7±0.6	-	-
98 Neidentifikovano 6	-	tr	-	tr	0.1±0.1	0.1±0.0	0.2±0.1	0.1±0.1	-	-	-
99 Spatulanol	0.7±0.5	0.4±0.3	0.4±0.4	0.5±0.3	0.5±0.4	0.6±0.5	0.6±0.3	0.5±0.5	2.2±1.7	0.5±0.4	2.0±1.3
100 Kariofilen oksid	2.1±0.7	3.4±1.5	2.8±0.9	1.7±0.7	2.3±1.1	3.0±1.1	2.9±1.0	3.0±1.4	6.4±2.4	2.3±0.7	5.6±2.5
101 Viridiflorol	-	-	-	-	0.1±0.0	-	-	-	-	-	-
102 β -Kopaen-4- α -ol)	-	-	-	0.1±0.0	-	-	0.1±0.0	-	-	-	-
103 Humulen epoksid II	-	tr	tr	-	tr	tr	tr	0.1±0.1	0.4±0.1	tr	0.1±0.1
104 γ -Eudezmol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3±0.1	tr	-
105 1-epi-Kubenol	-	-	-	0.1±0.0	-	-	-	-	-	-	-
106 Kariofila-3(15),7(14)-dien-6- α -ol	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	-	-	0.4±0.2	0.3±0.1	-	0.3±0.1	0.8±0.4
107 Kariofila-4(12),8(13)-dien5- β -ol	-	-	-	-	0.3±0.2	0.6±0.1	-	-	0.3±0.2	-	-
108 epi- α -Kadinol	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	tr	0.2±0.0
109 α -Murolol (=Toreiol)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3±0.2	-	0.4±0.0
110 β -Eudezmol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5±0.3	-	-
111 α -Eudezmol	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0±0.5	0.4±0.2	-
112 α -Kadinol	-	tr	tr	tr	tr	0.2±0.1	0.1±0.0	tr	0.8±0.6	0.1±0.1	0.2±0.3
113 Selin-11-en-4- α -ol	-	-	-	-	0.4±0.3	1.0±0.3	-	-	-	-	-
114 Kadalen	tr	tr	tr	tr	tr	0.2±0.1	0.2±0.1	tr	-	0.1±0.0	-
115 Neidentifikovano 8	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2±0.1	-	-
116 14-Hidroksi- β -Kariofilen	0.3±0.1	0.4±0.2	0.4±0.2	0.2±0.1	0.4±0.2	0.6±0.2	0.6±0.2	0.6±0.3	-	-	1.0±0.5
117 α -Bisabolol	-	tr	-	-	-	-	-	0.1±0.1	-	-	0.1±0.1
118 Eudezma-4(15),7-dien-1- β -ol	tr	0.1±0.0	tr	tr	-	0.1±0.1	0.1±0.0	tr	-	-	0.1±0.1
119 Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
120 α -Eudezmol acetat	tr	tr	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-

nastavak tabele 4.4.1.1.1.

Ukupni monoterpeni	71.0±8.8	79.9±6.4	86.9±2.5	78.1±11.7	83.1±6.4	75.9±6.5	78.4±4.2	69.8±7.3	70.0±9.4	83.8±5.1	75.8±9.8
<i>Monoterpeni ugljovodonici</i>	36.4±13.3	30.9±10.5	33.2±13.7	26.0±10.0	29.6±10.3	52.4±9.8	31.4±9.4	23.3±8.2	13.4±8.7	21.9±4.8	49.4±10.6
<i>Monoterpeni oksidovani</i>	34.6±13.5	49.1±9.8	53.7±14.5	52.1±8.5	53.5±12.7	23.5±12.0	47.0±11.1	46.6±9.1	56.6±11.0	62.0±8.4	26.4±9.0
Ukupni seskviterpeni	10.6±2.5	10.9±3.0	8.5±1.8	11.2±2.8	9.1±2.5	10.3±1.4	10.8±2.2	10.4±2.1	25.0±8.9	8.2±2.1	15.4±5.9
<i>Seskviterpeni ugljovodonici</i>	7.3±2.2	6.3±1.9	4.5±1.2	8.6±2.6	5.3±1.4	4.3±0.9	5.9±1.8	5.7±1.5	13.2±4.5	4.6±1.2	5.5±2.9
<i>Seskviterpeni oksidovani</i>	3.3±1.2	4.7±1.8	4.0±1.4	2.6±0.9	3.7±1.6	6.1±1.5	4.9±1.4	4.6±2.1	11.8±4.8	3.6±1.0	9.8±3.7
Druga jedinjenja^{b)}	14.8±7.8	6.0±5.6	1.7±0.7	8.3±10.2	5.4±5.2	11.5±6.6	3.6±3.2	13.5±5.8	0.3±0.3	5.3±4.7	2.6±3.0
Neidentifikovana jedinjenja	-	0.1±0.1	-	-	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.1	0.2±0.1	-	-
UKUPNO	96.4±1.2	96.9±1.2	97.1±0.7	97.5±0.9	97.6±1.1	97.8±0.6	93.0±2.5	93.7±2.7	95.4±1.8	97.3±0.7	93.8±4.3
Ukupan broj jedinjenja	42-51	43-57	45-55	38-58	34-56	42-56	35-55	39-54	36-51	45-56	40-56

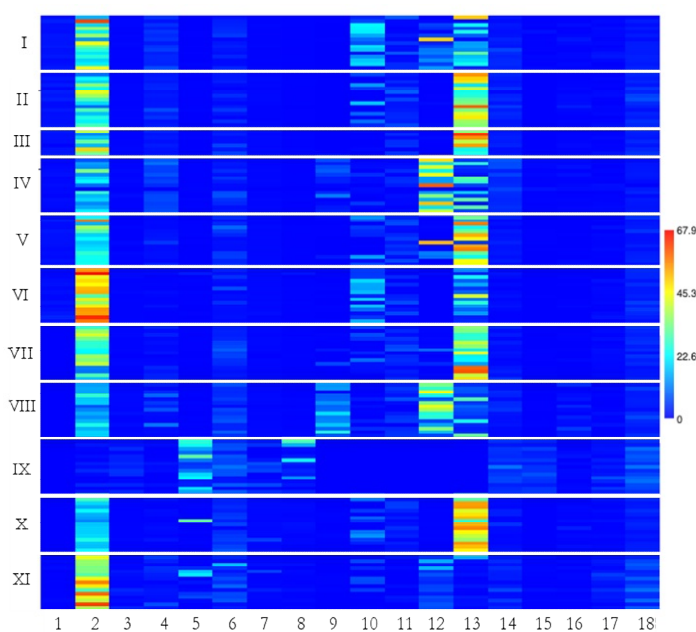
^{a)}Sadržaj svake komponente je dat kao procenat (srednja vrednost \pm SD) ukupnog sastava etarskog ulja, **tr** - tragovi ($0,05 < tr < 0,10\%$); - nije detektovano jedinjenje; jedinjenja koja su bila zastupljena sa manje od 0,05% nisu predstavljena u tabeli; masnim slovima su napisane vrednosti sa udelom u sastavu etarskog ulja preko 5%

^{b)}alifatični ugljovodonici, alifatični aldehidi i alkoholi, alifatične kiseline i njihovi estri i aldehidi, aromatični estri, aromatični alkoholi, aril estri i aromatične kiseline

4.4.1.2. Varijabilnost etarskog ulja *Satureja montana*

Univarijantne analize

Matriks plot, pokazuje da dve komponente dominiraju sastavom etarskog ulja, *p*-cimen i karvakrol kod većine populacija, izuzetak su populacija Krk, Makarska koje pored pomenutih komponenti imaju i veću količinu timola (Slika 4.4.1.2.1). Populacija Gacko se od ostalih izdvaja po manjim količinama *p*-cimen i nedostatku karvakrola i sličnom udelu linalola i α -terpineola. Iako u njenom profilu dominira geraniol, ovo jedinjenje je isključeno iz daljih univarijantnih i multivarijantnih analiza jer nije imalo normalnu distribuciju. Podvrsta *pisidica* se izdvaja po dominaciji samo jedne komponente *p*-cimen.



Slika 4.4.1.2.1. Matriks plot
ssp. *variegata*: I-Bovec; II-Crni
vrh; III-Divača; IV- Krk;
ssp. *montana*: V-Jadranovo; VI-
Zlobin; VII-Sibinj; VIII-
Makarska; IX-Gacko; X-
Mokrine;
ssp. *pisidica*: XI-Galičica;
1-1-Okten-3-ol; 2- *p*-Cimen, 3-
Limonen; 4- γ -Terpinen; 5-
Linalol; 6- Borneol; 7- Terpinen-
4-ol; 8- α -Terpineol; 9- Timol
metil etar; 10- Karvakrol metil
etar; 11- Timokinon; 12- Timol;
13- Karvakrol; 14-(*E*)-
Kariofilen; 15- Germakren D;
16- β -Bisabolen; 17- Spatulenol;
18- Kariofilen oksid;

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 11 populacija vrste *Satureja montana*, uključujući populacije sve tri podvrste (Tabela 4.4.1.2.1.). Pokazano je značajno razlikovanje između sve tri podvrste na 12 od 18 odabranih komponenti etarskog ulja. Međutim, konzervativnija *post-hoc* analiza (Tukey's, $P < 0,05$) pokazuje manju je razliku između podvrsta. Podvrsta *pisidica* se razlikuje od ostale dve podvrste na osnovu 6 od 12 komponenti (*p*-cimen, limonen, timokinon, karvakrol, spatulenol i kariofilen oksid). Podvrsta *variegata* se od ostalih razlikuje na osnovu 2 komponente (1-okten-3-ol i borneol), a od ssp. *montana* na osnovu (*E*)-kariofilena. γ -Terpinen razdvaja sva tri taksona međusobno.

Tabela 4.4.1.2.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 18 nekorelisanih komponenti etarskog ulja kod podvrsta *S. montana*

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>variegata</i> n=52	<i>montana</i> n=89	<i>pisidica</i> n=15
1-Okten-3-ol	38.8	***	1.3±0.6	0.4±0.7 ^a	0.3±0.2 ^a
<i>p</i> -Cimen	10.7	***	24.1±12.0 ^a	23.3±16.6 ^a	42±10.3
Limonen	6.2	***	0.4±0.1 ^a	0.7±0.9 ^a	1.2±1.0
γ -Terpinen	28.4	***	3.7±2.0	1.3±1.8	2.5±1.8
Linalol	4.6	***	0.1±0.1 ^a	3.0±7.2 ^{ab}	3.9±6.7 ^a
Borneol	9.5	***	2.5±1.6	3.9±2.4 ^a	5.1±4.1 ^a
Terpinen-4-ol	3.4	**	0.5±0.1	1.0±1.4	1.0±1.5
<i>a</i> -Terpineol	2.3	-	0.2±0.1 ^a	1.4±4.5 ^a	0.6±0.3 ^a
Timol metil etar	2.3	-	1.1±2.4 ^a	2.2±5.0 ^a	0.1±0.1 ^a
Karvakrol metil etar	2.5	-	5.3±7.4 ^a	3.5±5.1 ^a	2.0±2.8 ^a
Timokinon	6.0	***	2.4±2.1 ^a	2.3±2.1 ^a	0.5±0.7
Timol	3.2	**	11.2±16.5	5.4±11.9	6.5±4.1
Karvakrol	10.3	***	25.4±17.6 ^a	23.4±19.9 ^a	1.9±3.7
(E)-Kariofilen	8.0	***	3.1±1.5 ^a	2.0±1.7 ^b	2.7±1.6 ^{ab}
Germakren D	3.0	-	0.2±0.3 ^a	0.7±1.6 ^a	0.4±0.3 ^a
β -Bisabolen	0.3	-	0.5±0.5 ^a	0.5±0.9 ^a	0.4±0.3 ^a
Spatulenol	17.7	***	0.5±0.4 ^a	0.8±1.0 ^a	2.0±1.3
Kariofilen oksid	18.0	***	2.4±1.2 ^a	3.3±2.0 ^a	5.6±2.5

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli terpena su dati kao srednja vrednost \pm SD; statistički značajne vrednosti su označene masnim slovima; *** $P < 0,01$

ANOVA sa 18 izabranih terpena koji su imali udeo veći od 0,5 i nisu bili korelisani, je pokazala da se sve populacije razlikuju međusobno. Urađen je i *post-hoc* test. Populacija Galičica (podvrsta *pisidica*) se najviše razlikuje od ostalih. Takođe, velika većina populacija podvrste *montana* se razlikuje od podvrste *variegata*. Populacija Makarska se od ostalih razlikuje po β -bisabolenu, dok se populacija Gacko razlikuje na osnovu 5 komponenti (*p*-cimen, limonen, linalol, *a*-terpineol, germakren D). Timol izdvaja populacije Krk i Makarsku. Međutim, ne postoji kontinuirano grupisanje populacija u podvrste.

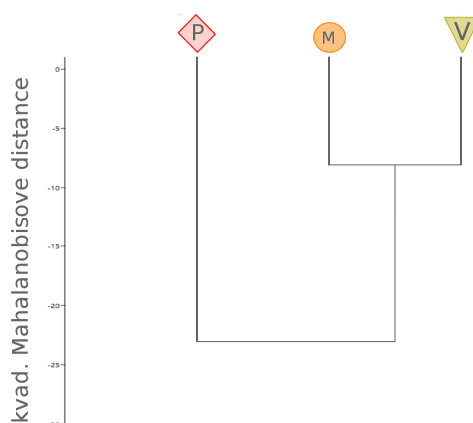
Tabela 4.4.1.2.2. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 18 nekoreliranih komponenti etarskog ulja kod populacija *S. montana*

	<i>F</i>	<i>P</i>	Bovec n=15	Crni Vrh n=15	Divača n=7	Krk n=15	Jadranovo n=14	Zlobin n=15	Sibinj n=15	Makarska n=15	Gacko n=15	Mokrine n=15	Galičica n=15
1-Okten-3-ol	41.9	***	1.6±0.5 ^{ac}	1.5±0.6 ^{ac}	1.3±0.5 ^{ac}	0.7±0.3 ^{bce}	1.2±0.5 ^{ac}	1.1±0.7 ^{abc}	_de	_de	_de	_de	0.3±0.2 ^{bde}
<i>p</i> -Cimen	30.8	***	29.3±13.4 ^{abe}	24.6±9.5 ^w	28.5±13.5 ^{abe}	16.2±8.1 ^{bef}	25.7±10.5 ^w	50.2±9.8 ^d	27.5±9.7 ^w	16.5±4.9 ^w	1.2±1.1	19.0±4.5 ^w	42.0±10.3 ^d
Limonen	15.6	***	0.4±0.1 ^{ab}	0.4±0.1 ^{ab}	0.3±0.1 ^{ab}	0.4±0.2 ^{ab}	0.2±0.2 ^{ab}	0.4±0.1 ^{ab}	0.4±0.2 ^{ab}	0.6±0.2 ^{ab}	2.2±1.5	0.3±0.1 ^{ab}	1.2±1.0 ^{bc}
γ -Terpinen	16.0	***	3.7±1.3 ^w	2.6±1.3 ^w	1.9±0.5 ^w	5.7±2.1 ^w	1.4±1.1 ^w	0.4±0.4 ^w	1.5±1.0 ^w	3.2±3.3 ^w	0.5±0.6 ^w	0.6±0.4 ^w	2.5±1.8 ^w
Linalol	15.1	***	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.3±0.6 ^a	0.1±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	14.6±9.1	2.2±8.0 ^a	3.9±6.7 ^a
Borneol	4.5	***	2.4±1.3 ^w	1.9±1.4 ^{abc}	2.9±2.0 ^w	2.9±2.0 ^w	3.4±2.3 ^w	1.9±1.8 ^{abc}	3.8±2.0 ^w	4.7±2.0 ^w	5.6±2.9 ^{cde}	4.1±1.6 ^w	5.1±4.1 ^w
Terpinen-4-ol	5.3	***	0.4±0.0	0.5±0.1	0.7±0.1	0.4±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1	0.5±0.2	0.6±0.1	2.5±2.6	1.0±1.2	1.0±1.5
α -Terpineol	6.8	***	0.2±0.0 ^a	0.2±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.3±0.3 ^a	0.2±0.1 ^a	0.4±0.2 ^a	6.8±9.4	0.6±0.3 ^a	0.6±0.3 ^a
Timol metil etar	39.9	***	0.0±0.1 ^w	_abc	0.0±0.1 ^w	3.7±3.2 ^w	0.3±0.5 ^{abc}	0.2±0.1 ^w	0.6±1.6 ^{abc}	11.8±6.0 ^{abc}	_cde	0.2±0.2 ^w	0.1±0.1 ^w
Karvakrol metil etar	12.6	***	13.0±8.0	4.3±5.8	0.2±0.2	1.0±1.4	3.8±4.8	10.1±6.8	2.3±3.0	1.0±1.2	-	4.1±4.5	2.0±2.8
Timokinon	6.0	***	2.4±2.6	3.4±2.1	2.5±1.8	1.4±1.4	3.5±2.0	2.0±2.2	2.9±1.9	3.0±2.1	-	2.3±1.5	0.5±0.7
Timol	20.6	***	9.1±11.9 ^a	0.2±0.2 ^a	0.2±0.2 ^a	29.3±17.5 ^b	5.3±13.8 ^a	0.1±0.2 ^a	1.2±2.4 ^a	25.5±13.1 ^b	_a	0.2±0.1 ^a	6.5±4.1 ^a
Karvakrol	31.4	***	16.7±13.0 ^{ac}	38.8±11.4 ^b	41.8±15.4 ^b	13.2±12.6 ^{acd}	36.9±16.3 ^b	13.1±10.6 ^{acd}	35.2±13.7 ^b	10.0±10.0 ^{acd}	_cd	45.8±9.0 ^b	1.9±3.7 ^{cd}
(<i>E</i>)-Kariofilen	13.8	***	2.6±1.3 ^{ab}	2.7±1.1 ^{ab}	2.0±0.6 ^{abd}	4.5±1.5 ^c	1.6±0.7 ^{abd}	0.7±0.5 ^{bd}	1.7±1.1 ^{abd}	2.0±1.2 ^{abd}	4.5±2.0 ^c	1.2±1.1 ^{abd}	2.7±1.6 ^{ab}
Germakren D	78.8	***	0.3±0.3 ^a	_a	_a	0.4±0.4 ^a	0.1±0.1 ^a	_a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	4.0±1.5	_a	0.4±0.3 ^a
β -Bisabolen	8.1	***	0.6±0.5 ^a	0.6±0.6 ^a	0.3±0.2 ^a	0.5±0.4 ^a	0.1±0.2 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.2 ^a	1.7±1.5	0.5±0.5 ^a	0.6±0.6 ^a	0.4±0.3 ^a
Spatulenol	11.3	***	0.7±0.5 ^a	0.4±0.3 ^a	0.4±0.4 ^a	0.4±0.4 ^a	0.4±0.4 ^a	0.5±0.5 ^a	0.6±0.3 ^a	0.4±0.5 ^a	2.2±1.7 ^b	0.5±0.4 ^a	2.0±1.3 ^b
Kariofilen oksid	15.8	***	2.1±0.7 ^a	3.4±1.5 ^a	2.8±0.9 ^a	1.7±0.7 ^a	2.3±1.1 ^a	3.0±1.1 ^a	2.9±1.0 ^a	3.0±1.4 ^a	6.4±2.4 ^b	2.3±0.7 ^a	5.6±2.5 ^b

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f,w} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$), pri čemu u grupu ^w su smešteni svi oni koji se nalaze u više od 1 grupe; Udeli terpena su dati kao srednja vrednost \pm SD; *** $P < 0,01$

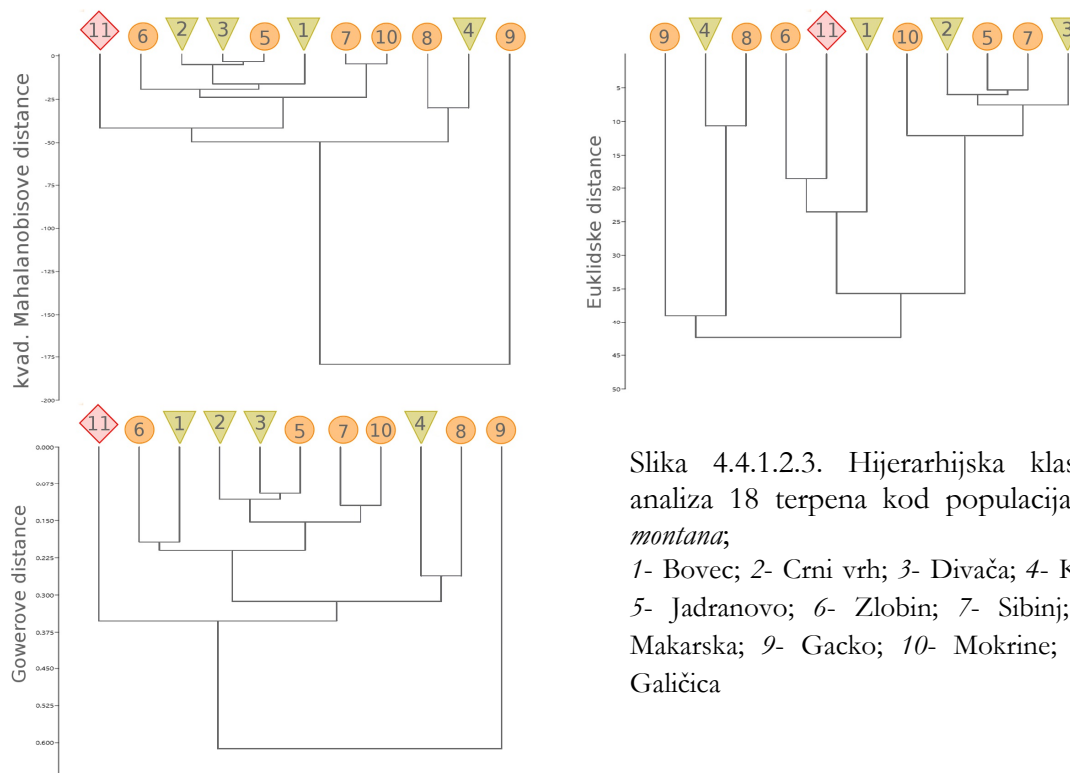
Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA podvrsta i prosečnom udelu svih 18 nekorelisanih komponenti etarskog ulja je pokazao iste rezultate za sve distance, Euklidske distance, Gowerove i kvadrirane Mahalanobisove distance (Slika 4.4.1.2.2). Klaster analiza je pokazala da su podvrste *montana* i *variegata* sličnije po sastavu etarskog ulja u odnosu na ssp. *pisidica*. Ovi rezultati se poklapaju sa ANOVA testom.



Slika 4.4.1.2.2. Hijerarhijska klaster analiza 18 terpena kod podvrsta *S. montana*
a) kvadrirane Mahalanobisove distance; M- ssp. *montana*; V- ssp. *variegata*; P- ssp. *pisidica*

Klaster analiza sa svim populacijama je dala nešto drugačije rezultate za iste distance (Slika 4.4.1.2.3). Kvadrirane Mahalanobisove i Gowerove distance najviše razlikuju populaciju Gacko, ali ostatak topologije stabla je različit. Kvadrirane Mahalanobisove distance u drugoj kladi izdvajaju Krk i Makarsku od ostalih populacija. Gowerove distance su grupisale u kladu koja je različita od Gackog, Galičicu kao najrazličitiju, pa potom Krk i Mokrine, a zatim, za razliku od prethodnih distanci, grupišu se Zlobin i Bovec, potom Sibinj i Mokrine, i na kraju Crni vrh, Divača i Jadranovo. Euklidske distance su dale četiri klade, prva klada je Gacko, druga Krk i Makarska, treća Zlobin, Galičica i Bovec i četvrta klada su sve ostale. Rezultati pokazuju veliku varijabilnost etarskih ulja.



Slika 4.4.1.2.3. Hijerarhijska klaster analiza 18 terpena kod populacija *S. montana*;

1- Bovec; 2- Crni vrh; 3- Divača; 4- Krk; 5- Jadranovo; 6- Zlobin; 7- Sibirj; 8- Makarska; 9- Gacko; 10- Mokrine; 11- Galičica

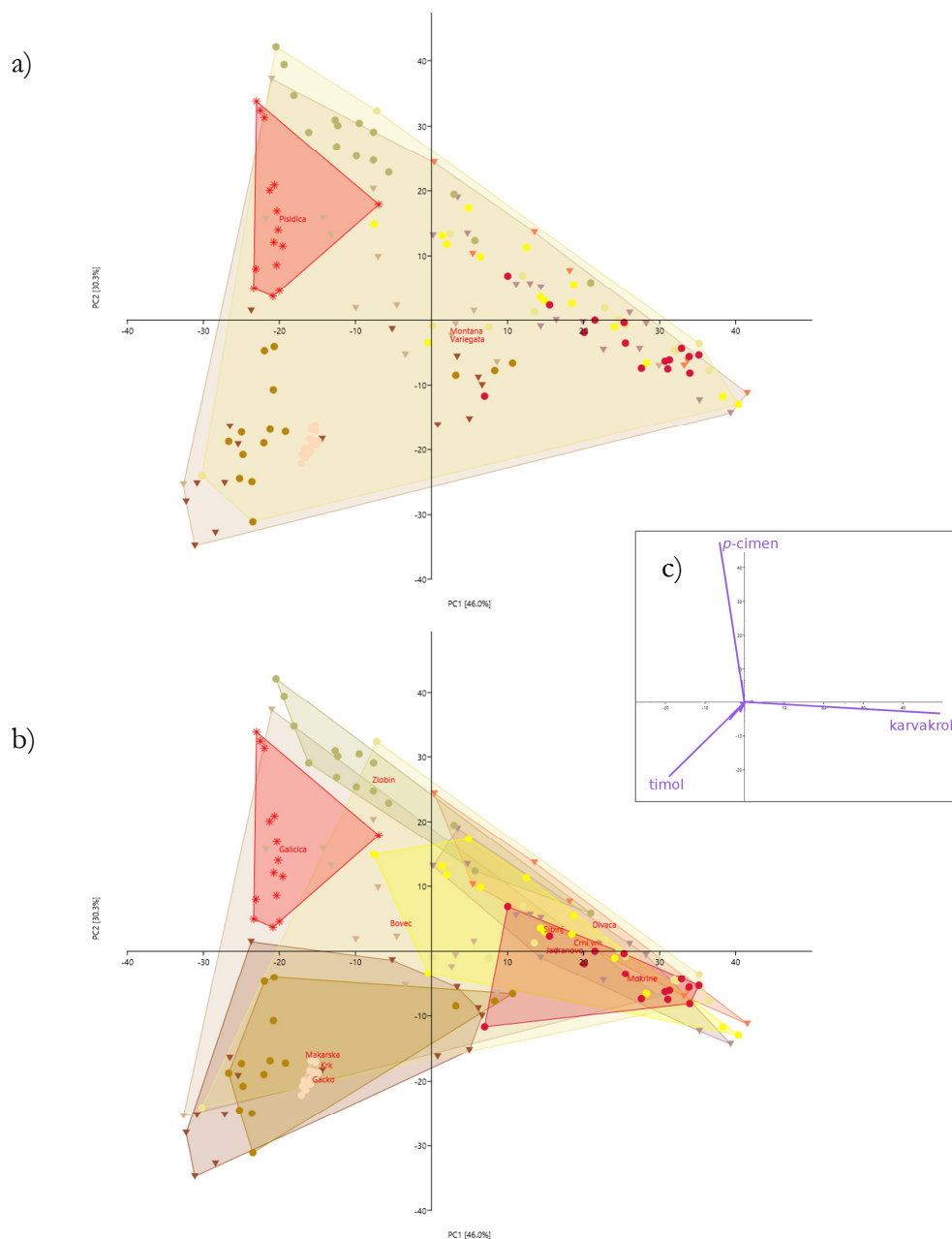
Analiza glavnih komponenti (PCA)

Tabela 4.4.1.2.3. Udeo 18 terpena u prva tri vektora

	PC 1	PC 2	PC 3
1-Okten-3-ol	0.00	0.02	0.02
<i>p</i>-Cimen	-0.12	0.89	0.33
Limonen	-0.01	-0.01	-0.04
γ -Terpinen	-0.03	-0.03	0.09
Linalol	-0.07	-0.09	-0.37
Borneol	-0.02	-0.02	-0.06
Terpinen-4-ol	-0.01	-0.01	-0.04
α -Terpineol	-0.03	-0.05	-0.15
Timol metil etar	-0.07	-0.08	0.11
Karvakrol metil etar	-0.01	0.13	0.01
Timokinon	0.04	0.01	0.05
Timol	-0.35	-0.41	0.77
Karvakrol	0.92	-0.06	0.31
(<i>E</i>)-Kariofilen	-0.02	-0.05	-0.02
Germakren D	-0.02	-0.03	-0.08
β -Bisabolen	-0.01	-0.02	0.01
Spatulenol	-0.01	0.00	-0.05
Kariofilen oksid	-0.03	0.00	-0.10

Varijabilnost proučavanih 18 nekoreliranih komponenti etarskog ulja kod 156 individua je ispitana analizom glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose objašnjavaju oko 76 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.4.1.2.4). PCA je izdvojila 3 komponente koje najviše opisuju varijabilnost u celom setu podataka (karvakrol, *p*-cimen i timol). Takođe, pokazala je preklapanje sve tri podvrste, pri čemu podvrste *montana* i *variegata* imaju veliku varijabilnost, dok se populacija podvrste *pisidica* grupiše u jednom delu scatter plota. Položaj

populacija pokazuje da se Makarska i Krk karakterišu visokim udelom timola a Gacko linalola, Mokrine se odvajaju većim udelom karvakrola, a Galičica većim udelom *p*-cimen. Crni vrh, Divača i Sibinj imaju veći udeo karvakrola i *p*-cimen a manje timola. Dok populacija Zlobin ima veći udeo *p*-cimen a manji udeo karvakrola. Populacije Jadranovo i Bovec imaju veoma veliku varijabilnost. Rezultati PCA ukazuju na postojanje 3 ili 4 hemotipa.

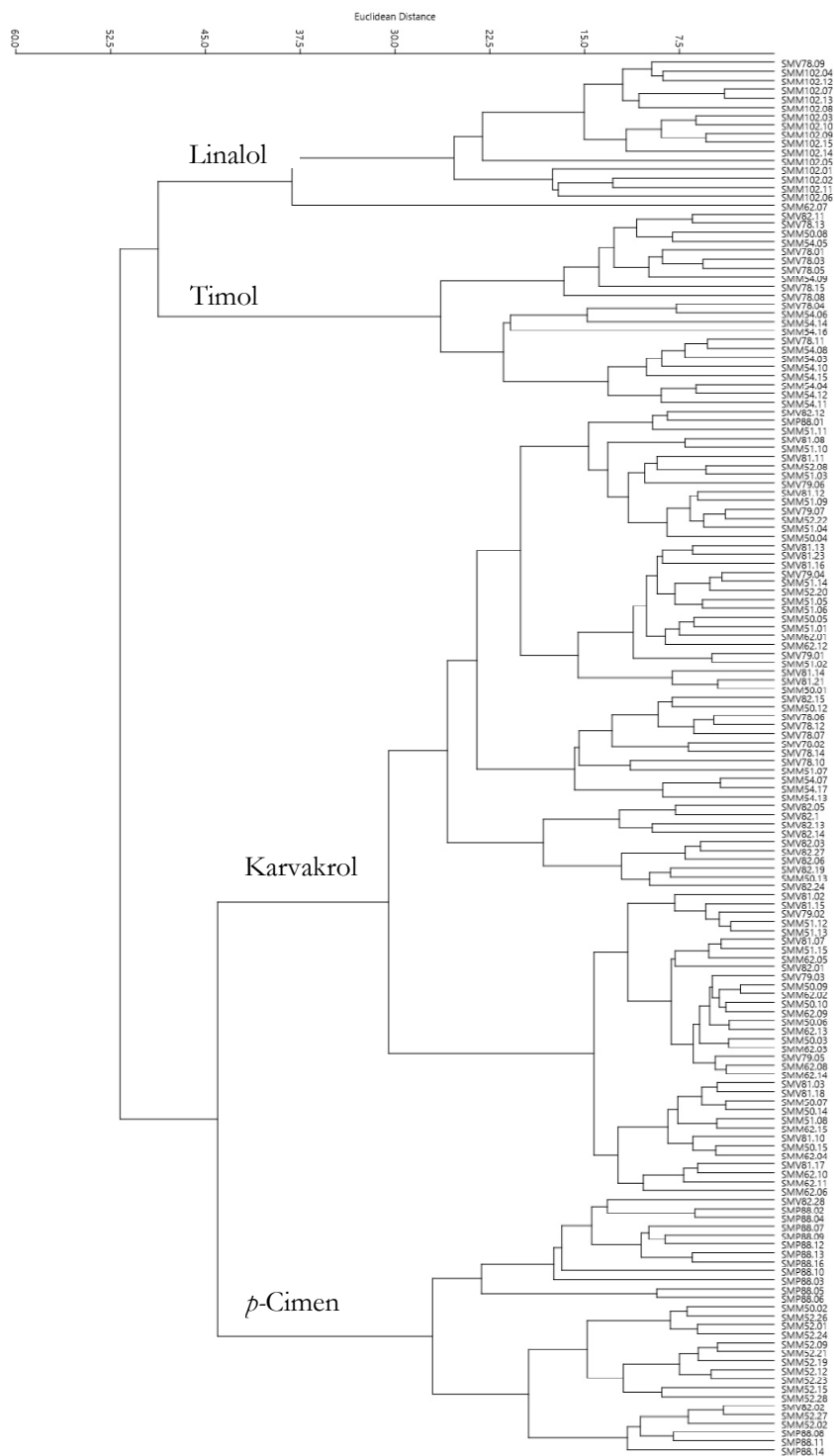


Slika 4.4.1.2.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) *S. montana*

a) sve tri podvrste; b) sve populacije; c) glavne komponente; ssp. *variegata*: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; ssp. *pisidica*: * Galičica

Hijerarhijska klaster analiza (HCA) hemotipova

Dendrogram koji je obuhvatio sve uzorke (HCA, Euklidske distance), baziranom na udelu svih 18 nekoreliranih komponenti etarkog ulja je grupisao sve jedinke u četiri klade, a u odnosu na dominantnu komponentu (Slika 4.4.1.2.5). Prva klada obuhvata jedinke sa dominantnim linalolom (linalolni hemotip), gde se nalaze individue iz populacije Gacko i po jedna individua iz populacija Krk i Mokrine. Druga klada obuhvata jedinke sa dominantnim timolom (timolni hemotip) gde su skoro sve jedinke iz populacija Krk i Makarska i po jedna jedinka iz populacija Bovec i Jadranovo. Treću kladu čine jedinke sa dominantnim karvakrolom (karvakrolni hemotip), gde se nalazi većina individua iz populacija Bovec, Crni vrh, Divača, Jadranovo, Sibinj i Mokrine i po nekoliko jedinaka iz drugih populacija Krk (6), Makarska (3), Zlobin (3) i Galičica (1). Četvrta klada obuhvata jedinke sa dominantnim *p*-cimenom (*p*-cimanski hemotip), i to većina jedinaka iz populacija Galičica i Zlobin, dve jedinke iz populacije Bovec i jedna iz Jadranova.



Slika 4.4.1.2.5. Hijerarhijska klaster analiza 18 terpena kod populacija *S. montana* po individuumima sa glavnim komponentama koje ih grupišu; Euklidske distance

Univarijantne analize hemotipova

Analiza varijanse (ANOVA) sa tri hemotipa koje je predložila PCA je pokazala diferencijaciju sva tri hemotipa na osnovu 17 od 18 komponenti (Tabela 4.4.1.2.4). Urađena je i *post-hoc* analiza (Tukey's, $P < 0,05$). Pokazana je najjača diferencijacija timolnog hemotipa. Sva tri hemotipa se međusobno razlikuju na osnovu 3 komponente, i to 1-okten-3-ola, *p*-cimen a i karvakrola. Timolni hemotip se razlikuje na osnovu dodatnih 11 od preostalih 15 komponenti. Karvakrolni hemotip se razlikuje od druga dva na još 4 od 15 komponenti (borneol, timokinon, spatulenol i kariofilen oksid), a *p*-cimenski samo na osnovu još 2 komponente (borneol i karvakrol metil etar) u odnosu na ostale hemotipove.

ANOVA sa 4 grupe na osnovu HCA analize, odnosno 4 hemotipa je pokazala diferencijaciju sva četiri hemotipa na osnovu svih komponenti (Tabela 4.4.1.2.4). *Post-hoc* test (Tukey's, $P < 0,05$) je pokazao diferencijaciju sva četiri hemotipa na osnovu samo jedne komponente (*p*-cimen a), dok se pojedini hemotipovi razlikuju na osnovu većeg broja komponenti. Linalolni hemotip se razlikuje od ostalih na osnovu 8 od 18 komponenti. Timolni hemotip na osnovu 6 od 18 komponenti, karvakrolni na osnovu 2, a *p*-cimenski na osnovu 1 komponente od svih ostalih. Poslednja dva hemotipa su ujedno međusobno i najslabija.

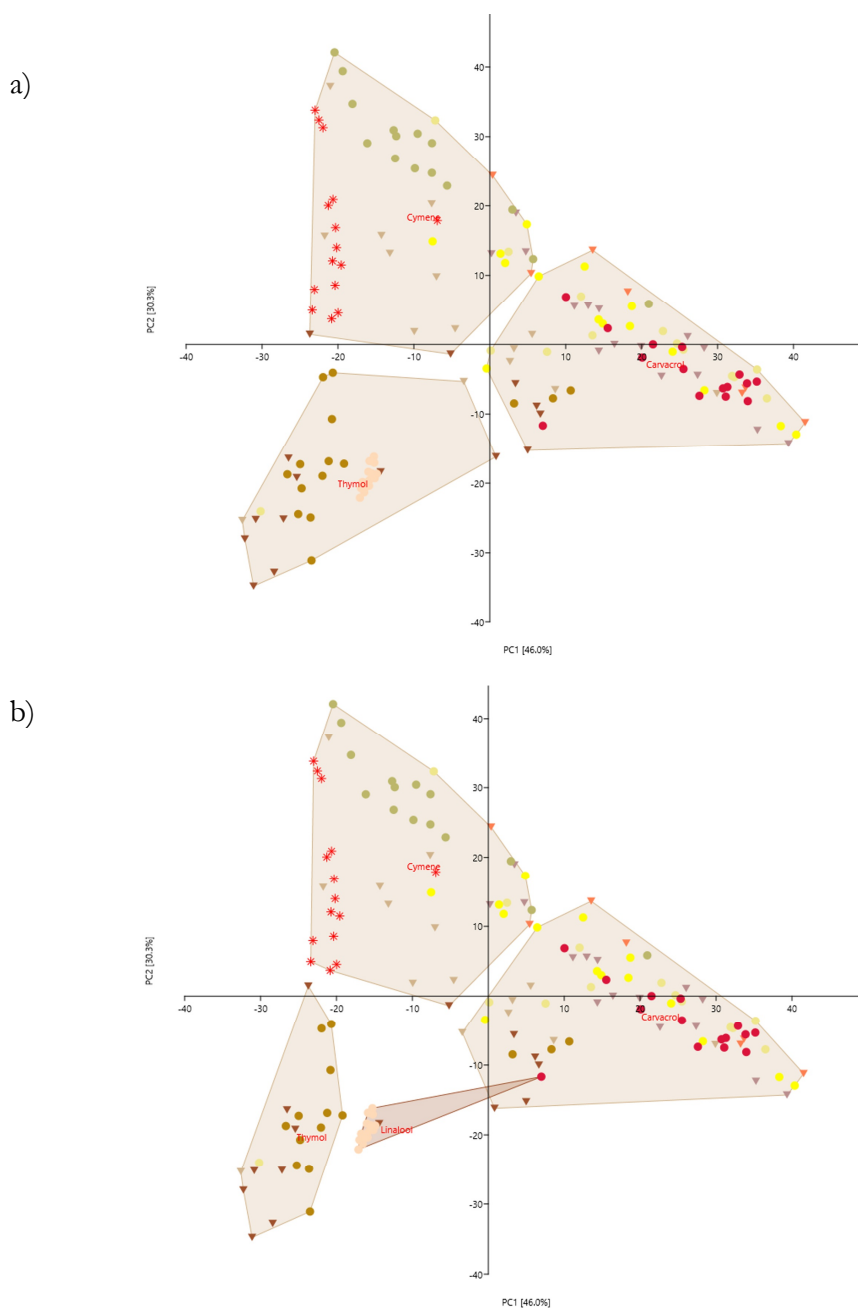
Tabela 4.4.1.2.4. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 18 nekoreliranih komponenti etarskog ulja kod populacija *S. montana* 3 i 4 hemotipa

	3 hemotipa					4 hemotipa					
	<i>F</i>	<i>P</i>	Karvakrol	<i>p</i> -Cimen	Timol	<i>F</i>	<i>P</i>	Karvakrol	<i>p</i> -Cimen	Linalol	Timol
1-Okten-3-ol	13.5	***	0.7±0.7	1.0±0.8	0.3±0.5	10.4	***	0.7±0.7 ^{abc}	1.0±0.8 ^{ab}	0.0±0.1 ^{cd}	0.4±0.6 ^{acd}
<i>p</i> -Cimen	199.5	***	21.2±6.2	43.3±10.6	9.5±8.0	165.9	***	21.2±6.1	43.6±10.6	1.7±2.9	16.0±6.2
Limonen	17.4	***	0.3±0.1 ^a	0.6±0.6 ^a	1.2±1.3	30.7	***	0.3±0.1 ^a	0.6±0.7 ^a	2.0±1.6	0.6±0.2 ^a
γ -Terpinen	3.6	**	1.9±1.6 ^a	2.0±1.8 ^a	3.0±3.1	17.6	***	2.1±1.8 ^a	1.9±1.7 ^a	0.4±0.5	4.6±2.8
Linalol	11.0	***	0.6±3.8 ^a	1.3±4.0 ^a	5.7±9.0	64.6	***	0.1±0.1 ^a	1.3±4.0 ^a	14.7±10.1	0.2±0.1 ^a
Borneol	1.7	-	3.2±1.9 ^a	3.6±3.0 ^a	4.1±2.8 ^a	3.0	**	3.1±1.9 ^{ab}	3.6±3.0 ^{abc}	5.1±3.0 ^{bc}	3.5±2.2 ^{abc}
Terpinen-4-ol	4.3	**	0.7±0.6 ^a	0.7±0.8 ^a	1.3±1.9	12.6	***	0.6±0.6 ^a	0.7±0.8 ^a	2.3±2.6	0.5±0.1 ^a
α -Terpineol	8.2	***	0.3±0.2 ^a	0.3±0.3 ^a	2.8±6.6	19.2	***	0.3±0.2 ^a	0.3±0.3 ^a	6.1±9.1	0.2±0.2 ^a
Timol metil etar	19.1	***	0.7±2.0 ^a	0.5±1.5 ^a	4.8±6.7	50.4	***	0.7±2.0 ^a	0.3±1.0 ^a	0.0±0.1 ^a	8.7±6.8
Karvakrol metil etar	9.9	***	3.7±5.6 ^a	6.5±6.9	1.2±3.3 ^a	7.9	***	3.9±5.8 ^{abc}	6.6±6.9 ^{ab}	0.3±1.1 ^{ac}	1.3±2.4 ^{ac}
Timokinon	17.5	***	3.1±2.0	1.7±2.0 ^a	1.0±1.4 ^a	14.8	***	3.1±2.0	1.7±2.0	0.0±0.2	1.9±1.5
Timol	40.2	***	2.2±4.5 ^a	3.8±5.1 ^a	20.9±20.3	193.1	***	2.7±5.1 ^a	3.4±4.4 ^a	0.0±0.1 ^a	36.6±12.2
Karvakrol	258.3	***	41.2±11.1	10.4±9.0	3.7±5.3	168.7	***	40.9±11.3	10.6±9.1 ^{ab}	1.6±6.6 ^{bc}	4.6±2.0 ^{abc}
(<i>E</i>)-Kariofilen	25.1	***	2.0±1.1 ^a	1.8±1.5 ^a	3.8±2.0	15.1	***	2.1±1.2 ^a	1.8±1.5 ^a	4.3±2.1	3.2±1.7
Germakren D	34.0	***	0.1±0.2 ^a	0.2±0.2 ^a	1.7±2.0	159.4	***	0.1±0.2 ^a	0.2±0.2 ^a	3.6±1.8	0.2±0.2 ^a
β -Bisabolen	10.8	***	0.4±0.6 ^a	0.3±0.3 ^a	0.9±1.1	11.5	***	0.4±0.5 ^a	0.3±0.3 ^a	0.5±0.5 ^a	1.2±1.4
Spatulenol	8.7	***	0.4±0.4	1.0±1.0 ^a	1.1±1.4 ^a	20.7	***	0.4±0.3 ^a	1.0±1.0	2.1±1.7	0.4±0.4 ^a
Kariofilen oksid	7.8	***	2.6±1.1	3.7±2.0 ^a	3.9±2.7 ^a	22.5	***	2.6±1.1 ^a	3.8±2.0	5.9±2.6	2.2±1.4 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli terpena su dati kao srednja vrednost \pm SD; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

Analiza glavnih komponenti (PCA) sa 3 i 4 hemotipa

PCA sa svih 18 nekorelisanih komponenti je pokazala jasno odvajanje sva tri hemotipa. Međutim, kada su u pitanju 4 hemotipa postoji delimično preklapanje linalolnog i karvakrolnog hemotipa (jedna jedinka iz karvakrolnog tipa se nalazi u linalolnom).



Slika 4.4.1.2.6. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) *S. montana*

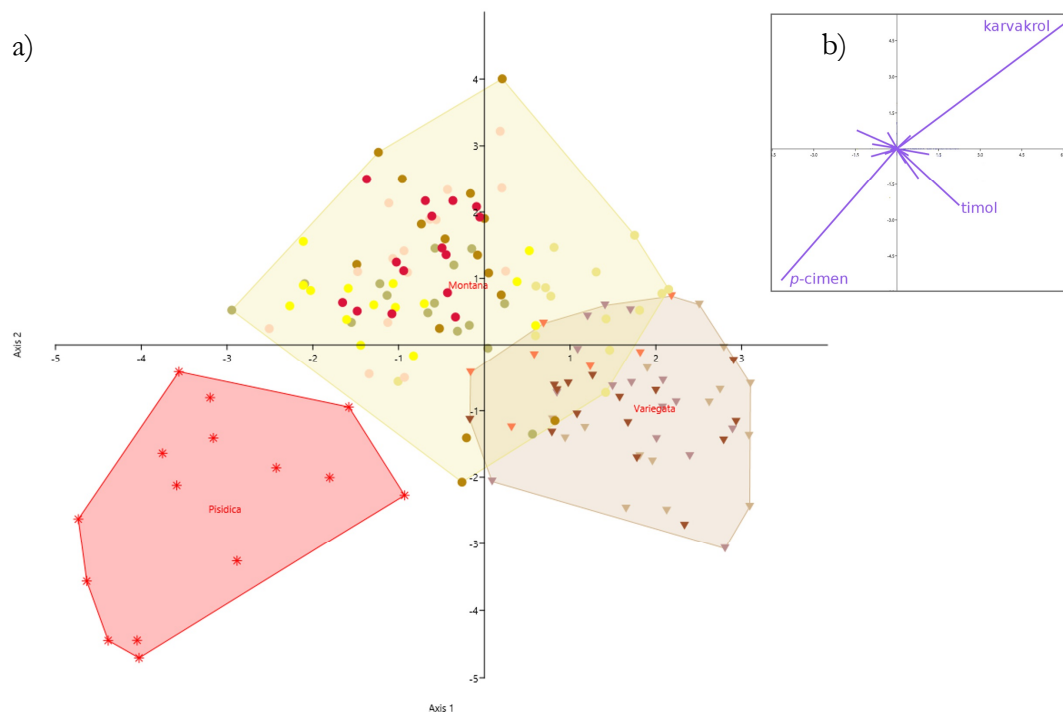
a) 3 hemotipa; b) 4 hemotipa; ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibirj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrinc; * Galičica

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 60 %, dok druga objašnjava oko 39 % ukupne varijabilnosti kada su grupe podvrste (Slika 4.4.1.2.7). DA, sa podvrstama kao grupama, pokazala je odvajanje ssp. *pisidica*, kao i delimično preklapanje druge dve podvrste *S. montana*. Matrica konfuzije je pokazala da u podvrstu *montana* prelaze svega 2 jedinke podvrste *variegata* i 1 jedinka podvrste *pisidica*, dok čak 10 jedinki podvrste *montana* prelazi u podvrstu *variegata* (Tabela 4.4.1.2.5). Diferenciranju podvrsta najviše doprinose karvakrol (odvaja podvrste *montana* i *variegata*) i *p*-cimen koji odvaja podvrstu *pisidica*. Međutim, i ostale komponente poput timola, γ -terpinena doprinose ovom odvajanju.

Tabela 4.4.1.2.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, podvrste *S. montana* kao grupe

	<i>variegata</i>	<i>montana</i>	<i>pisidica</i>	Σ
<i>variegata</i>	50	2	0	52
<i>montana</i>	10	79	0	89
<i>pisidica</i>	0	1	14	15
Σ	60	82	14	156



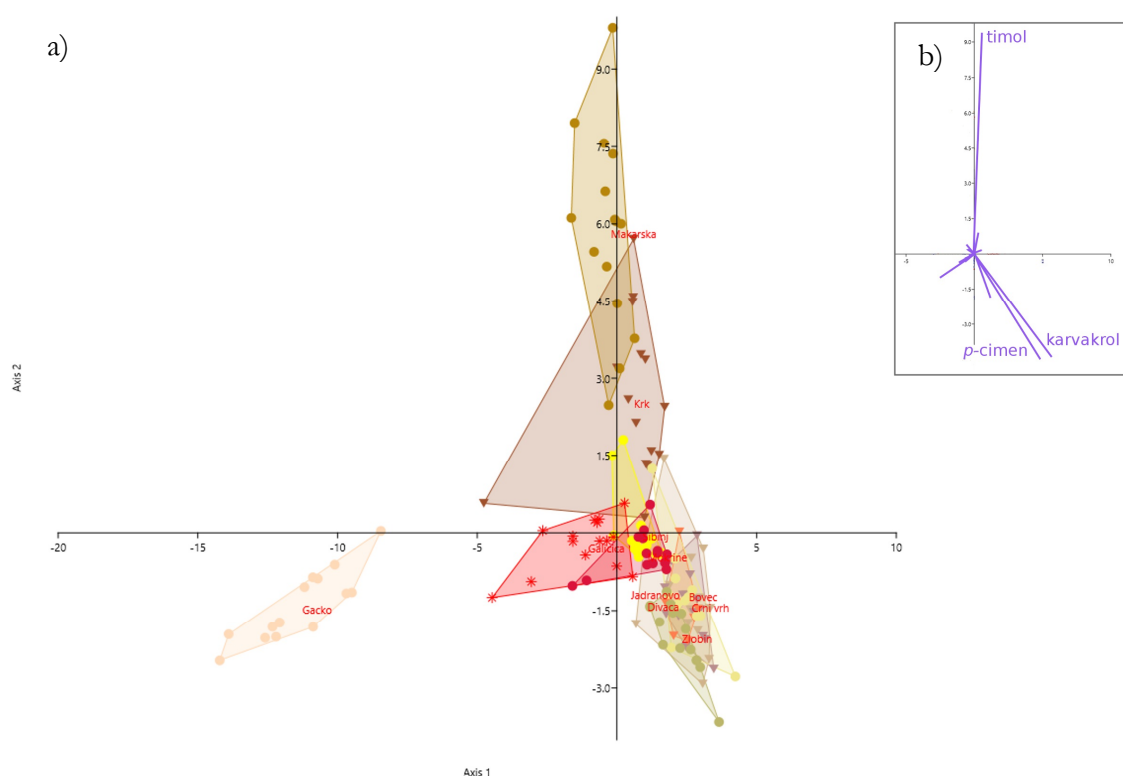
Slika 4.4.1.2.7. Scatter plot (DA) podvrste *S. montana* kao grupe
a) sve podvrste; b) glavni vektori; ▼ Bovec; ▼ Crni vrh; ▼ Divača; ▼ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica

DA analiza sa populacijama, gde prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 54 % a druga oko 18 %, jako odvaja populaciju Gacko od svih ostalih na osnovu linalola (Slika 4.4.1.2.8). Razlikovanje ostalih populacija nije baš najjasnije. Populacije Makarska i Krk se izdvajaju kao populacije bogate timolom, dok se veoma preklapljene populacije Bovec, Crni vrh, Divača, Jadranovo i Zlobin izdvajaju kao bogate *p*-cimenom i karvakrolom. Populacija Galičica se malo izdvaja kao bogata kariofilen oksidom. Matrica konfuzije je pokazala da u svojim zadatim grupama su sve jedinke iz populacija Gacko i Krk, dok kod svih ostalih je bar po 1 jedinka prebačena u drugu populaciju (Tabela 4.4.1.2.6). Izuzetak su populacije Jadranovo i Crni vrh gde je 5 odnosno 6 jedinki prebačeno u drugu grupu.

Tabela 4.4.1.2.6. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, populacije *S. montana* kao grupe

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	Σ
I	13	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	15
II	1	9	5	0	0	0	0	0	0	0	0	15
III	0	1	5	0	0	0	0	0	0	1	0	7
IV	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	15
V	0	0	3	1	9	1	0	0	0	0	0	14
VI	0	0	0	0	1	13	0	0	0	1	0	15
VII	0	0	0	0	0	0	12	0	0	3	0	15
VIII	0	0	0	2	0	0	0	13	0	0	0	15
IX	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	15
X	0	0	0	0	0	0	2	0	0	13	0	15
XI	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	14	15
Σ	14	11	13	18	10	15	15	13	15	18	14	156

ssp. *variegata*: I-Bovec; II-Crni vrh; III-Divača; IV-Krk; ssp. *montana*: V-Jadranovo; VI-Zlobin; VII-Sibinj; VIII-Makarska; IX-Gacko; X-Mokrine; ssp. *pisidica*: XI-Galičica; Σ - ukupno

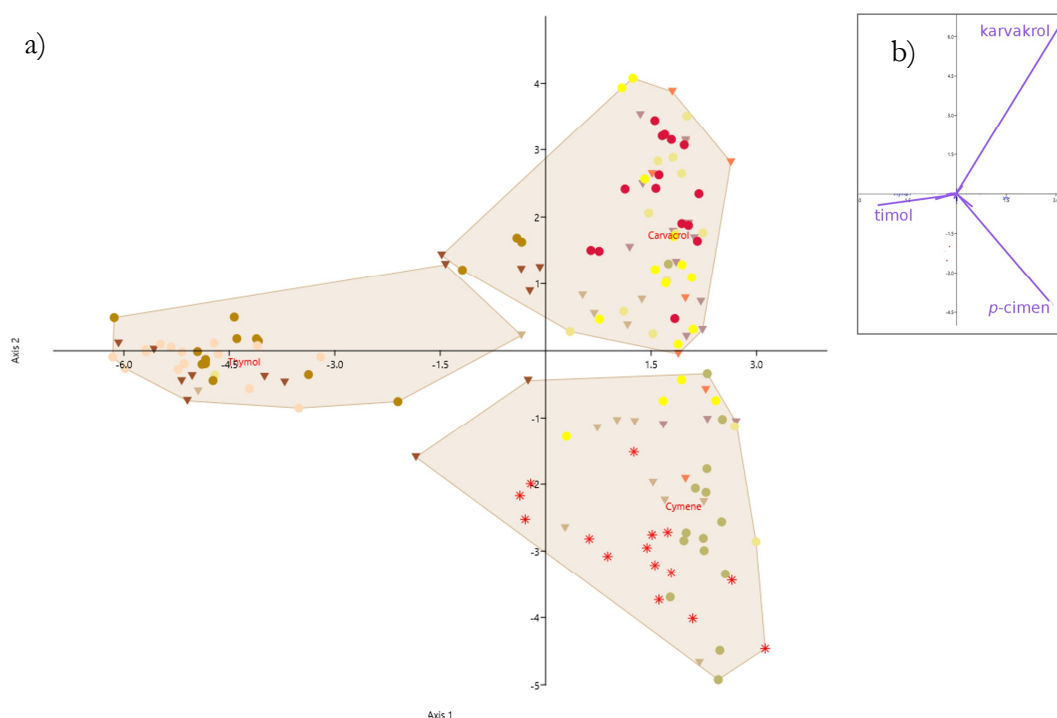


Slika 4.4.1.2.8. Scatter plot (DA) populacije *S. montana* kao grupe
a) sve populacije; b) glavni vektori; ▴ Bovec; ▴ Crni vrh; ▴ Divača; ▴ Krk; ● Jadranovo;
● Zlobin; ● Sibinj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica

Diskriminantna analiza sa 3 hemotipa koje je predložila PCA je pokazala njihovo gotovo potpuno odvajanje na prve dve diskriminante ose, prva osa objašnjava oko 69 % a druga oko 30 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.4.1.2.9). Matrica konfuzije, pokazuje da su svega 3 jedinice prebačene iz jednog u drugi hemotip (Tabela 4.4.1.2.7). Dve jedinice iz timolskog hemotipa su prebačene u karvakrolni, a jedna *p*-cimenskog hemotipa je priključena timolskom. Ovdajanju hemotipova najviše doprinose *p*-cimen, timol i karvakrol.

Tabela 4.4.1.2.7. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, grupe su 3 hemotipa

	Karvakrol	<i>p</i> -Cimen	Timol	Σ
Karvakrol	67	0	0	67
<i>p</i> -Cimen	0	49	1	50
Timol	2	0	37	39
Σ	69	49	38	156

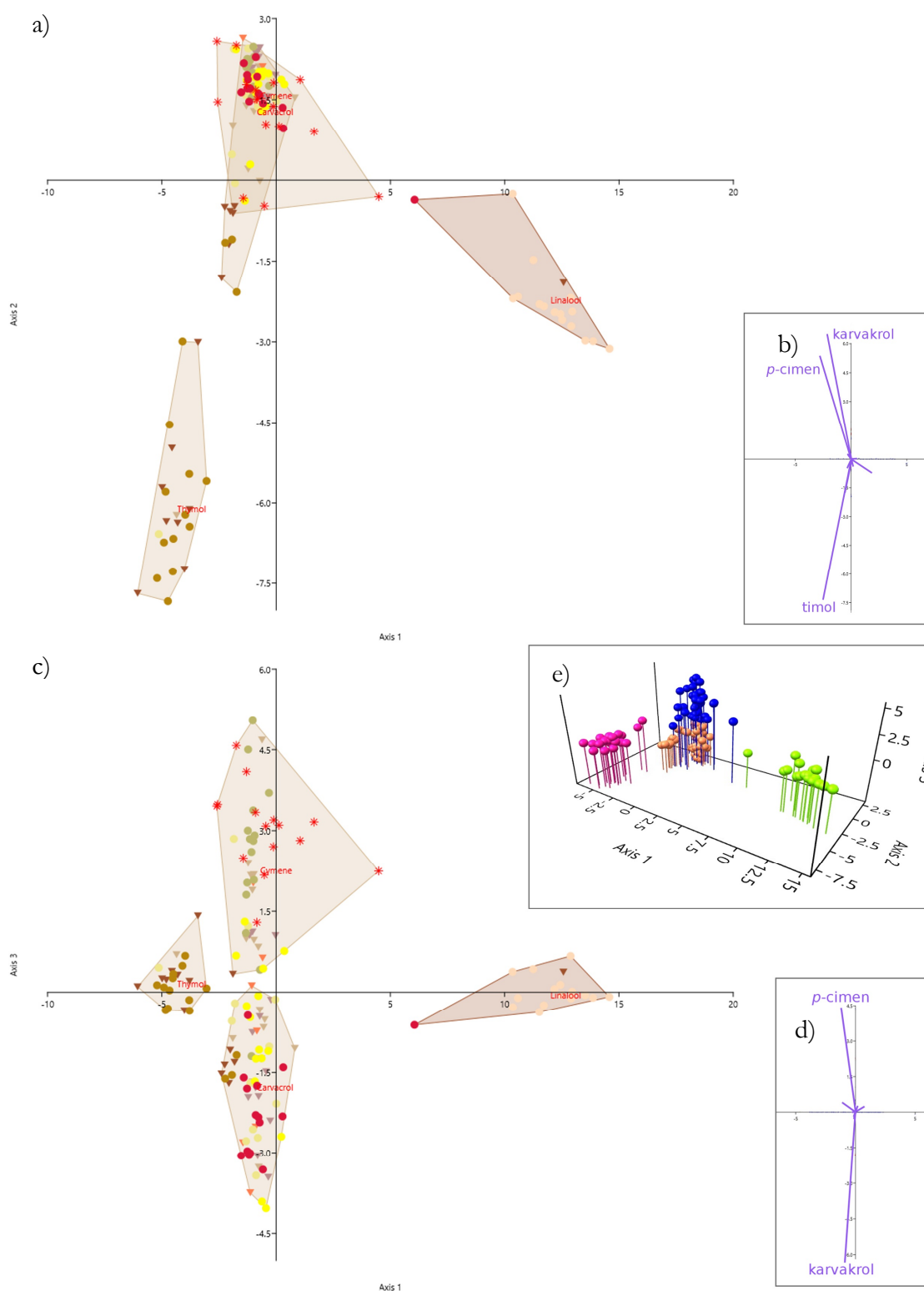
Slika 4.4.1.2.9. Scatter plot (DA) 3 hemotipa *S. montana* kao grupe

a) 3 hemotipa (Karvakrol, *p*-Cimen i Timol); b) glavni vektori; ▼ Bovec; ▼ Crni vrh; ▼ Divača; ▼ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica

DA sa 4 hemotipa koje je predložila HCA sa svim jedinkama je pokazala odvajanje 3 hemotipa na prve dve diskriminantne ose, dok se na trećoj osi odvajaju karvakrolni i *p*-cimenski hemotip, prva osa objašnjava oko 64 %, druga oko 25 % a treća oko 10 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.4.1.2.10). Odvajanje hemotipova je na osnovu četiri komponente i to *p*-cimen, linalol, timol i karvakrol. Matrica konfuzije pokazuje da samo jedna jedinka iz *p*-cimenskog hemotipa prelazi u karvakrolski hemotip (Tabela 4.4.1.2.8)

Tabela 4.4.1.2.8. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, 4 hemotipa su grupe

	Karvakrol	<i>p</i> -Cimen	Timol	Linalol	Σ
Karvakrol	68	0	0	0	68
<i>p</i> -Cimen	1	48	0	0	49
Timol	0	0	22	0	22
Linalol	0	0	0	17	17
Σ	69	48	22	17	156



Slika 4.4.1.2.10. Scatter plot (DA) 4 hemotipa *S. montana* kao grupe

a) 1 i 2 osa; c) 1 i 3 osa; b) i d) glavni vektori; e) 3-D prikaz (karvakrol, *p-cimen*, timol i linalol); ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica;

Bioklimatski podaci

Linearna zavisnost bioklimatskih parametara i nekorelisanih komponenti etarskog ulja *S. montana* je otkrivena samo kod jedne komponente 1-okten-3-ola i to sa svega dva bioklimatska parametra. Negativna sa BIO9 (temperatura u najsuvljem kvartalu) i pozitivna sa BIO18 (količina padavina u najtoplijem kvartalu).

Mantelov i parcijalni Mantelov test su pokazali da nema korelacije između odabranih nekorelisanih komponenti etarskog ulja i bioklimatskih parametara, kao ni između komponenti etarskog ulja i geografskog regiona (Tabela 4.4.1.2.9).

Tabela 4.4.1.2.9. Mantelov i parcijalni Mantelov test

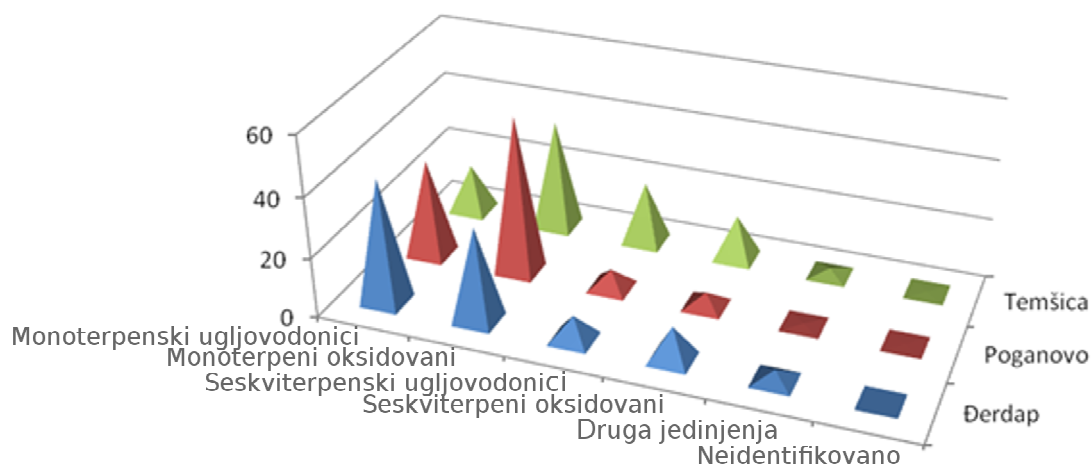
	Euklidske distance		Gowerove distance		Kvadrirane Mahalanobisove distance	
	R	P	R	P	R	P
EU+BIO	0.25	0.09	0.18	0.18	0.03	0.39
EU+BIO-Geo	0.18	0.11	-0.02	0.50	-0.12	0.72
EU+Geo	0.18	0.16	0.35	0.10	0.23	0.11

EU-profil etarskog ulja; *BIO*-bioklimatski parametri; *Geo*-geografski region

4.4.2.1. Hemijski sastav etarskog ulja *Satureja kitaibelii*

U etarskom ulju *S. kitaibelii* detektovano je 106 jedinjenja, od koji je 100 identifikovano. Međutim, po populaciji je u proseku detektovano između 47 do 72 jedinjenja, što predstavlja 89,3-95,9% ukupnog sastava etarskog ulja (Tabela 4.4.2.1.1, Prilog D3).

Dominantna grupa u sastavu etarskog ulja su monoterpeni (52,1-84,6%). U populacijama Poganovo i Temšica dominiraju oksidovani monoterpeni, dok u populaciji Đerdap dominiraju monoterpenski ugljovodonici (Slika 4.4.2.1.1). Seskviterpeni su zastupljeni u znatno manjem procentu (10,8-34,9%).



Slika 4.4.2.1.1. Procentualna zastupljenost grupa jedinjenja u sastavu etarskog ulja *S. kitaibelii*

U sve tri populacije su bili zastupljeni monoterpeni *p*-cimen i limonen, ali nije pronađena komponenta koja je dominantno prisutna u sve tri populacije. Najmanja procentualna zastupljenost komponenti etarskog ulja (5,5-12%) je pronađena u populaciji Temšica, gde je bio i najveći broj komponenti sa sličnim udelom u profilu (oko 6%). Populacija Đerdap ima jednu dominantnu komponentu *p*-cimen, a ostale koje imaju veći udeo imaju slične vrednosti, dok u populaciji Poganovo postoje 4 dominante komponente dve sa većim i dve sa manjim udelom.

Profilu komponenti sa udelo preko 5% u etarskom ulju tri populacije *S. kitaibelii* je bio sledeći:

Đerdap: *p*-cimen (21,9%) >> Sabinen hidrat (9,0%) = limonen (8,0%) = borneol (7,7%) > kariofilen oksid (5,9)

Poganovo: linalol (22,2%) > *p*-cimen (16,9%) >> borneol (7,6%) = limonen (7,4%)

Temšica: geraniol (12,0%) > borneol (7,7%) = β -bourbonen (5,9%) = spatulenol (5,8) = *p*-cimen (5,5%) = limonen (5,2%)

Tabela 4.4.2.1.1. Sastav etarskog ulja izolovanog iz *S. kitaibelii*

	Đerdap ^{a)} n=14	Poganovo n=15	Temšica n=15
1 Heksanal	0.5±0.3	-	-
2 Triciklen	tr	tr	tr
3 α -Tujen	0.2±0.1	0.2±0.2	tr
4 α -Pinen	2.4±0.6	3.2±1.9	2.0±1.0
5 Kamfen	2.2±0.9	2.1±0.9	1.4±0.7
6 Tuja-2,4(10)-dien	-	0.1±0.1	0.1±0.1
7 Sabinen	0.2±0.2	tr	tr
8 β -Pinen	0.7±0.3	0.3±0.1	0.1±0.1
9 Mircen	0.4±0.2	0.2±0.1	0.2±0.1
10 3-Oktanol	0.2±0.1	-	0.4±0.2
11 α -Felandren	tr	tr	tr
12 α -Terpinen	0.5±0.4	0.4±0.6	0.2±0.1
13 <i>p</i> -Cimen	21.9±9.4	16.9±10.5	5.5±2.6
14 Limonen	8.0±2.4	7.4±5.4	5.2±2.3
15 1,8-Cineol	2.7±1.2	1.3±0.8	1.8±0.7
16 <i>cis</i> - β -Ocimen	0.5±0.3	0.4±0.4	0.1±0.0
17 <i>trans</i> - β -Ocimen	0.6±0.3	-	-
18 γ -Terpinen	1.0±0.7	1.0±1.4	0.4±0.2
19 <i>cis</i> -Sabinen hidrat	9.0±9.1	3.2±4.6	2.0±1.6
20 <i>cis</i> -Linalol oksid (furanoid)	-	3.6±2.7	0.6±0.2
21 Terpinolen	3.8±11.2	-	-
22 Kamfenilon	-	-	0.3±0.1
23 <i>trans</i> -Linalol oksid (furanoid)	-	3.0±2.6	0.4±0.1
24 <i>trans</i> -Sabinen hidrat	1.7±1.0	0.6±0.6	0.4±0.2
25 Linalol	-	22.2±15.5	0.3±0.1
26 α -Kamfolenal	0.1±0.1	-	-
27 <i>trans</i> -Pinokarveol	0.5±0.1	0.4±0.2	0.3±0.1
28 <i>cis-p</i> -Menta-2-en-1-ol	0.6±0.2	0.2±0.2	tr
29 <i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0.5±0.1	0.2±0.1	tr
30 Kamfor	1.0±0.4	1.2±0.7	1.7±0.7
31 Pinokarvon	tr	tr	-
32 Borneol	7.7±2.6	7.6±3.2	7.7±3.4
33 <i>cis</i> -Linalol oksid (piranoid)	-	0.7±0.5	-
34 <i>trans</i> -Linalol oksid (piranoid)	-	0.7±0.5	0.2±0.1
35 Terpinen-4-ol	3.8±2.9	2.5±3.3	3.2±1.5
36 <i>p</i> -Cimen-8-ol	1.5±0.7	1.4±1.2	1.6±0.5
37 α -Terpineol	0.6±0.3	0.5±0.3	0.5±0.1
38 <i>cis</i> -Dihidro karvon	0.4±0.2	1.1±0.9	0.6±0.3
39 Mirtenol	0.2±0.1	-	-
40 Neidentifikovano 1	-	0.2±0.1	-
41 <i>trans</i> -Dihidro karvon	0.9±0.7	0.6±0.5	-

nastavak tabele 4.4.2.1.1.

42	Verbenon	0.3±0.2	0.5±0.4	0.8±0.2
43	<i>trans</i> -Karveol	0.7±0.2	1.0±0.7	1.2±0.3
44	Izobornil format	0.4±0.1	0.3±0.2	-
45	<i>cis</i> -Karveol	tr	0.2±0.2	0.6±0.3
46	Nerol	-	-	0.6±0.2
47	<i>cis-p</i> -Menta-1(7),8-dien-2-ol	0.2±0.1	-	-
48	Kumin aldehid	0.2±0.1	0.2±0.1	-
49	Karvon	-	1.2±1.2	0.9±0.3
50	Neral	0.5±0.5	-	0.3±0.1
51	Karvakrol metil etar	3.0±4.5	-	-
52	Geraniol	-	-	12.0±4.8
53	Geranial	-	-	0.5±0.3
54	Bornil acetat	tr	0.2±0.2	0.2±0.1
55	Timol	0.2±0.1	0.6±0.9	0.2±0.1
56	<i>p</i> -Cimen-7-ol	0.2±0.1	0.3±0.0	-
57	Karvakrol	0.4±0.2	0.6±0.4	0.9±0.4
58	δ -Elemen	tr	-	0.2±0.0
59	α -Kubeben	tr	tr	0.2±0.1
60	Neidentifikovano 4	-	-	0.3±0.0
61	α -Ilangen	-	tr	0.2±0.1
62	α -Kopaen	0.2±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1
63	β -Bourbonen	1.5±0.6	1.9±0.8	5.9±1.8
64	β -Kubeben	-	0.2±0.1	-
65	β -Elemen	0.2±0.2	-	0.4±0.1
66	(<i>E</i>)-Kariofilen	2.2±1.0	1.2±0.8	4.2±1.7
67	β -Kopaen	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1
68	α -Guaien	0.1±0.1	0.2±0.1	0.4±0.1
69	Aromadendren	-	-	0.3±0.1
70	<i>trans</i> -Murola-3,5-dien	0.2±0.0	-	-
71	α -Humulen	0.1±0.0	tr	0.3±0.1
72	alo-Aromadendren	0.1±0.0	-	-
73	<i>cis</i> -Kadina-1(6),4-dien	tr	-	0.1±0.0
74	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-Kariofilen	-	-	0.2±0.0
75	γ -Murolen	tr	0.2±0.1	0.5±0.2
76	Germakren D	1.6±0.9	0.9±0.9	2.8±1.3
77	β -Selinen	-	tr	0.4±0.1
78	Biciklogermakren	0.7±0.6	0.2±0.1	1.9±1.1
79	<i>cis</i> - β -Guaien	0.4±0.0	-	-
80	α -Murolen	-	-	0.2±0.0
81	Premnaspirodien	0.1±0.0	-	-
82	β -Bisabolen	0.8±0.5	0.5±0.5	1.0±0.5
83	γ -Kadinen	tr	0.2±0.1	0.4±0.2
84	δ -Kadinen	tr	0.2±0.1	0.5±0.2
85	Dihidroaktinidiolid	-	-	0.2±0.1
86	α -Kadinen	-	-	0.6±0.3
87	α -Kalakoren	-	-	0.4±0.3
88	1- <i>nor</i> -Bourbonanon	tr	tr	1.0±0.5
89	Neidentifikovano 6	tr	-	0.3±0.1
90	Spatulenol	2.9±1.8	1.2±1.1	5.8±2.0
91	Kariofilen oksid	5.9±2.4	1.6±0.7	3.8±1.1
92	β -Kopaen-4- <i>a</i> -ol)	0.1±0.0	-	0.3±0.0
93	Salvial-4(14)-en-1-on	0.2±0.1	0.2±0.1	0.5±0.2

nastavak tabele 4.4.2.1.1.

94	Humulen epoksid II	-	-	0.5±0.2
95	Kariofila-4(12),8(13)-dien5-β-ol	0.1±0.0	0.3±0.2	1.2±0.4
96	α-Murolol (=Toreiol)	0.4±0.2	0.3±0.1	0.4±0.2
97	α-Kadinol	0.2±0.1	0.2±0.1	0.8±0.2
98	Mustakon	-	-	0.3±0.1
99	14-Hidroksi-β-Kariofilen	0.6±0.3	0.3±0.2	0.9±0.3
100	α-Bisabolol	-	0.1±0.1	0.5±0.2
101	Eudezma-4(15),7-dien-1-β-ol	0.5±0.3	0.4±0.1	-
102	Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1-α-ol	0.2±0.1	0.4±0.1	0.6±0.2
103	Heptadekan C17	-	-	0.1±0.0
104	Amorfa-4,9-dien-2-ol	0.4±0.4	-	-
	Ukupni monoterpeni	72.5±7.5	84.6±4.6	52.1±7.4
	<i>Monoterpenski ugljovodonici</i>	41.4±11.0	32.2±13.9	15.7±5.3
	<i>Monoterpeni oksidovani</i>	31.1±10.6	52.4±15.1	36.4±6.7
	Ukupni seskviterpeni	19.0±4.2	10.8±3.7	34.9±6.5
	<i>Seskviterpenski ugljovodonici</i>	7.9±2.6	6.2±2.2	20.4±5.3
	<i>Seskviterpeni oksidovani</i>	11.0±3.6	4.6±2.1	14.5±3.3
	Druga jedinjenja ^{b)}	3.6±4.3	0.4±0.3	2.1±0.8
	Neidentifikovana jedinjenja	-	0.1±0.1	0.2±0.1
	UKUPNO	95.1±2.4	95.9±1.5	89.3±3.2
	Ukupan broj jedinjenja	50-65	47-63	60-72

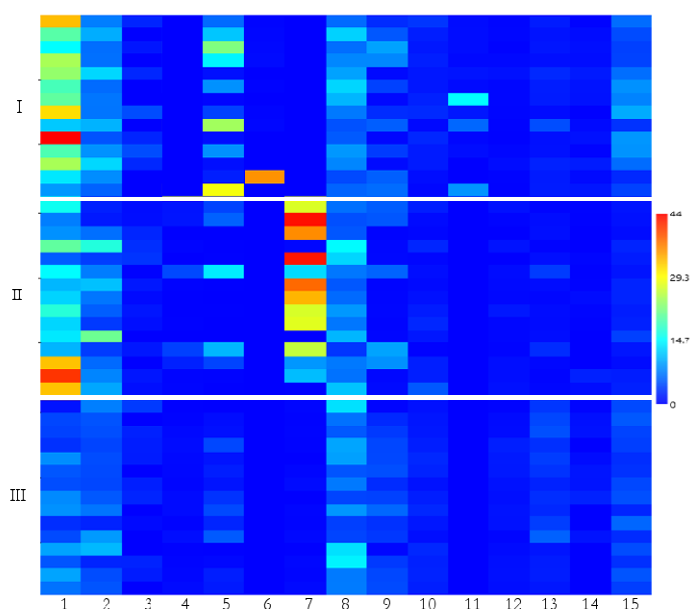
^{a)}Sadržaj svake komponente je dat kao procenat (srednja vrednost ±SD) ukupnog sastava etarskog ulja, **tr** - tragovi (0,05 < tr < 0,10%); - nije detektovano jedinjenje; jedinjenja koja su bila zastupljena sa manje od 0,05% nisu predstavljena u tabeli; masnim slovima su napisane vrednosti sa udelom u sastavu etarskog ulja preko 5%

^{b)}alifatični ugljovodonici, alifatični aldehidi i alkoholi, alifatične kiseline i njihovi estri i aldehidi, aromatični estri, aromatični alkoholi, aril estri i aromatične kiseline

4.4.2.2. Varijabilnost etarskog ulja *Satureja kitaibelii*

Univarijantne analize

Matriks plot je pokazao da većina izabranih komponenti ima veći udeo u etarskom ulju, i da čak 10 komponenti pokazuju veliku varijabilnost (Slika 4.4.2.2.1). Na matriks plotu vidimo da sve populacije imaju veliki udeo *p*-cimen i borneola, a posebno populacije Đerdap i Poganovo. Populacija Đerdap se dodatno odvaja na osnovu *cis*-sabinen hidrata od druge dve populacije, dok se populacija Poganovo dodatno odvaja na osnovu linalola. Populacija Temšica se od ostalih odvaja pre svega na osnovu manjeg udela pomenutih komponenti.



Slika 4.4.2.2.1. Matriks plot *S. kitaibelii*
 I-Đerdap; II-Poganovo; III-Temšica
 1- *p*-Cimen; 2- Limonen; 3- 1,8-Cineol; 4- γ -Terpinen; 5- *cis*-Sabinen hidrat; 6- Terpinolen; 7- Linalol; 8- Borneol; 9- Terpinen-4-ol; 10- *p*-Cimen-8-ol; 11- Karvakrol metil etar; 12- Karvakrol; 13- Germakren D; 14- β -Bisabolen; 15- Kariofilen oksid;

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa 15 nekorelisanih komponenti koje su imale prosečni udeo veći od 0,5% i sa sve 3 populacija vrste *S. kitaibelii* (Tabela 4.4.2.2.1). ANOVA je pokazala statistički značajnu razliku između populacija na osnovu 7 od 15 komponenti. Međutim, konzervativnija *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$) je pokazala da se populacije međusobno razlikuju samo na osnovu karvakrola i kariofilen oksida. Populacija Temšica se razlikuje od druge dve na osnovu *p*-cimen i germakrena D. Populacija Đerdap se razlikuje od ostalih na osnovu *cis*-sabinen hidrata a populacija Poganovo na osnovu linalola. *cis*-Sabinen hidrat i β -bisabolen su razlikovali Đerdap od Poganova, dok je karvakrol metil etar razlikovao Temšicu od Đerdapa.

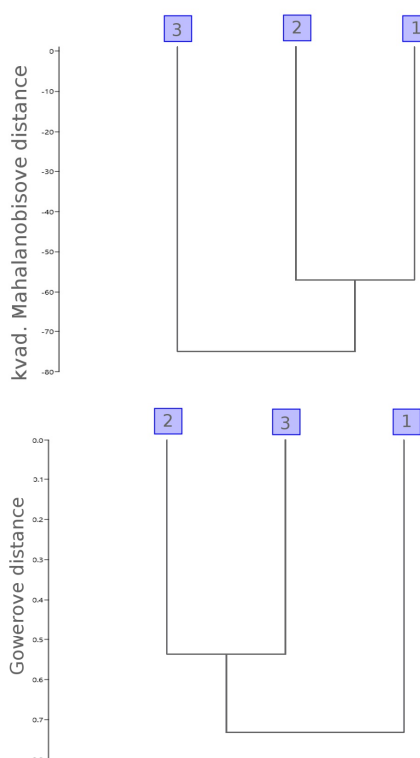
Tabela 4.4.2.2.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 15 nekorelisanih komponenti etarskog ulja kod populacija *S. kitaibelii*

	<i>F</i>	<i>P</i>	Đerdap n=14	Poganovo n=15	Temšica n=15
<i>p</i> -Cimen	15.1	***	21.9±9.4 ^a	16.9±10.5 ^a	5.5±2.6
Limonen	2.4	-	8.0±2.4 ^a	7.4±5.4 ^a	5.2±2.3 ^a
1,8-Cineol	0.2	-	1.3±1.6 ^a	1.1±0.9 ^a	1.1±1.1 ^a
γ -Terpinen	12.3	***	1.0±0.7 ^a	0.9±1.4 ^a	0.4±0.2 ^a
<i>cis</i> -Sabinen hidrat	3.5	**	9.0±9.1 ^a	2.6±4.3 ^b	1.8±1.6 ^{ab}
Terpinolen	1.3	-	2.7±9.5 ^a	- ^a	- ^a
Linalol	29.3	***	- ^a	22.2±15.5	0.3±0.2 ^a
Borneol	0.0	-	7.7±2.6 ^a	7.6±3.2 ^a	7.7±3.4 ^a
Terpinen-4-ol	0.9	-	3.8±2.9 ^a	2.5±3.3 ^a	3.2±1.5 ^a
<i>p</i> -Cimen-8-ol	0.2	-	1.5±0.7 ^a	1.4±1.2 ^a	1.6±0.5 ^a
Karvakrol metil etar	5.3	***	2.6±4.3 ^a	- ^{ab}	- ^b
Karvakrol	8.3	***	0.4±0.2	0.6±0.4	0.9±0.4
Germakren D	13.6	***	1.6±0.9 ^a	0.9±0.9 ^a	2.8±1.3
β -Bisabolen	3.0	-	0.8±0.5 ^a	0.3±0.5 ^b	0.5±0.6 ^{ab}
Kariofilen oksid	27.0	***	5.9±2.4	1.6±0.7	3.8±1.1

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b} grupe su prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli terpena su dati kao srednja vrednost \pm SD; statistički značajne vrednosti su prikazane masnim slovima; *** $P < 0,01$, ** $0,01 < P < 0,05$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Hijerarhijska klaster analiza sa 15 nekorelisanih komponenti je u zavisnosti od izabranih distanci dala različite grupe (Slika 4.4.2.2.2). Kvadrirane Mahalanobisove distance grupišu Đerdap i Poganovo, Euklidske Temšicu i Đedrap, dok Gowerove grupišu Poganovo i Temšicu kao sličnije.



Slika 4.4.2.2.2. Hijerarhijska klaster analiza 15 terpena kod populacija *S. kitaibelii*,
1- Đerdap; 2- Poganovo; 3- Temšica

Analiza glavnih komponenti (PCA)

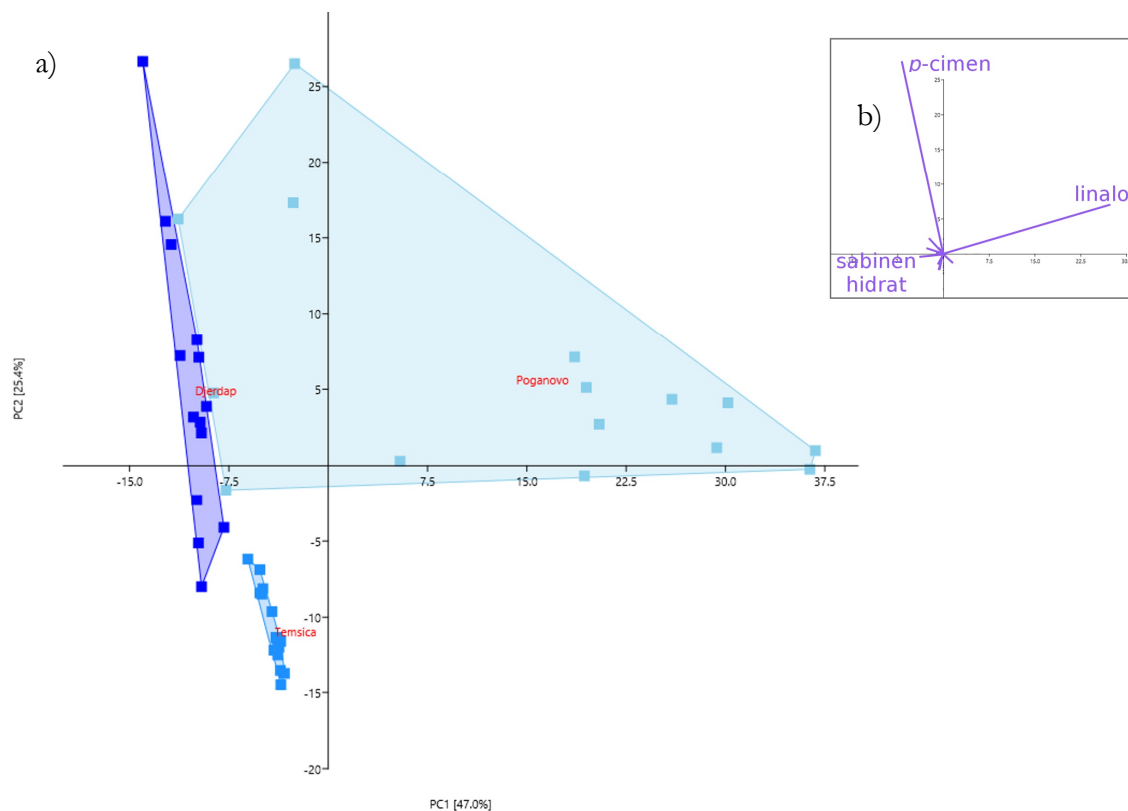
Tabela 4.4.2.2.2. Udeo 15 terpena u prva tri vektora

	PC 1	PC 2	PC 3
<i>p</i>-Cimen	-0.24	0.96	0.00
Limonen	-0.09	0.08	-0.06
1,8-Cineol	0.00	0.02	-0.04
γ -Terpinen	-0.00	-0.00	0.09
<i>cis</i>-Sabinen hidrat	0.08	-0.08	0.91
Terpinolen	-0.04	-0.03	-0.05
Linalol	0.95	0.25	0.13
Borneol	-0.04	0.00	-0.11
Terpinen-4-ol	-0.03	-0.05	0.22
<i>p</i> -Cimen-8-ol	-0.03	0.03	-0.04
Karvakrol metil etar	-0.04	0.00	0.16
Karvakrol	0.00	-0.01	-0.03
Germakren D	-0.02	-0.08	0.00
β -Bisabolen	-0.01	0.01	0.01
Kariofilen oksid	-0.10	0.03	-0.02

Varijabilnost sastava proučavanih 15 odabranih nekorelisanih komponenti kod 44 individa je ispitana analizom glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 71 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.4.2.2.3). PCA je pokazala da postoji velika varijabilnost u populaciji Poganovo i to na osnovu udela dve komponente, *p*-cimen i linalol. Takođe, pokazala je odvajanje sve tri populacije jednu

od druge. Dve komponente (*p*-cimen i linalol) su najbitnije za ukupnu varijabilnost u uzorku na prve dve ose, dok je *cis*-sabinen hidrat bitan na trećoj osi. Jedinke iz populacija

Đerdap i Temšica su se grupisale linearно jedna iznad druge na prvoj osi dok se lepo razdvajaju na drugoj osi na osnovu udela *p*-cimen a linalola. Udeo *p*-cimen a raste od Temšice do Đerdapa, a istovremeno od Đerdapa ka Temšici raste udeo linalola.



Slika 4.4.2.2.3. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

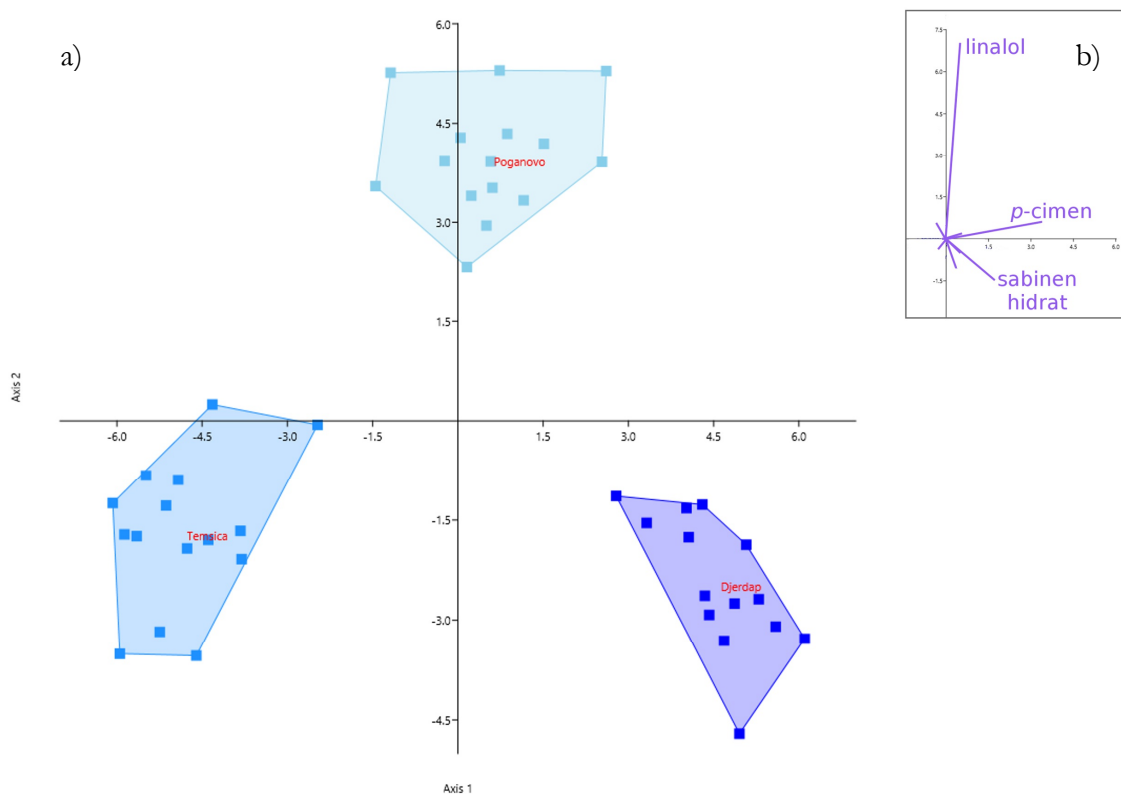
a) populacije *S. kitaibelii*; b) glavni vektori; ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo

Diskriminantna analiza (DA)

Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 64 %, dok druga objašnjava oko 35 % ukupne varijabilnosti sa populacijama kao grupama (Slika 4.4.2.2.4). DA je pokazala kompletno odvajanje populacija, bez preklapanja. Populacija Poganovo se ponovo odvaja od druge dve populacije na osnovu velikih količina linalola, kao na prethodnoj analizi (PCA). Populacija Đerdap se odvaja na osnovu većih količina *p*-cimen a i *cis*-sabinen hidrata, a manjih linalola. Populacija Temšica se odvaja od ostalih na osnovu manjih količina svih komponenti. Matrica konfuzije potvrdila rezultate DA (Tabela 4.4.2.2.3).

Tabela 4.4.2.2.3. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, populacije *S. kitaibelii*

	Đerdap	Poganovo	Temšica	Σ
Đerdap	14	0	0	14
Poganovo	0	15	0	15
Temšica	0	0	15	15
Σ	14	15	15	44



Slika 4.4.2.2.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (DA)

a) populacije *S. kitaibelii*; b) glavni vektori; ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo*Bioklimatski podaci*

Rezultati jednostavne linearne regresione analize (Tabela 4.4.2.2.4) sa bioklimatskim parametrima i nadmorskom visinom i 15 nekoreliranih komponenti etarskih ulja su pokazali da postoji statistički značajna korelacija sa bioklimatskim podacima. Količina *p*-cimen je bila u pozitivnoj korelaciji sa srednjom temperaturom (BIO1) i maksimalnom temperaturom najtoplijeg meseca (BIO5).

cis-Sabinen hidrat je pokazao pozitivnu korelaciju sa srednjom temperaturom najvlažnijeg meseca (BIO8) a negativnu sa nadmorskom visinom. Linalol i kariofilen oksid

su jedine komponente koje su u korelaciji sa većinom bioklimatskih parametara. Linalol je bio u pozitivnoj korelaciji sa bioklimatskim parametrima vezanim za temperaturu (BIO2, BIO3, BIO7, BIO9, BIO11), a negativnim sa parametrima vezanim za količinu padavina (BIO12, BIO14, BIO17 i BIO19). Kariofilen oksid je bio u negativnoj korelaciji sa nadmorskom visinom i nekim parametrima vezanim za temperaturu (BIO2, BIO3, BIO7), dok je u pozitivnoj bio sa svim parametrima padavina (BIO12-BIO19) kao i BIO4 i BIO8.

Tabela 4.4.2.2.4. Test linearne korelacije terpena *S. kitaibelii* i bioklimatskih komponenti

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
ALT	-0.5	-0.2	-0.1	-0.6	0.4	-0.2	0.3	0.0	-0.2	0.0	-0.5	0.5	0.1	-0.3	-0.6
BIO1	0.7	0.3	0.1	0.5	-0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	-0.1	0.3	-0.5	-0.5	0.1	0.2
BIO2	-0.2	-0.1	-0.1	-0.5	0.4	-0.2	0.6	0.0	-0.2	-0.1	-0.4	0.2	-0.2	-0.4	-0.8
BIO3	-0.1	0.0	-0.1	-0.4	0.3	-0.2	0.7	0.0	-0.2	-0.1	-0.3	0.1	-0.3	-0.3	-0.7
BIO4	0.3	0.1	0.1	0.6	-0.4	0.2	-0.5	0.0	0.2	0.0	0.4	-0.3	0.1	0.3	0.7
BIO5	0.7	0.3	0.1	0.5	-0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	-0.1	0.3	-0.5	-0.5	0.1	0.2
BIO6	0.6	0.3	0.1	0.6	-0.3	0.2	-0.1	0.0	0.1	0.0	0.4	-0.5	-0.3	0.2	0.5
BIO7	-0.1	0.0	-0.1	-0.5	0.4	-0.2	0.7	0.0	-0.2	-0.1	-0.4	0.2	-0.3	-0.4	-0.8
BIO8	0.5	0.2	0.1	0.6	-0.4	0.2	-0.3	0.0	0.2	0.0	0.5	-0.5	-0.2	0.3	0.6
BIO9	0.4	0.2	0.0	-0.1	0.2	0.0	0.7	0.0	-0.1	-0.1	-0.1	-0.2	-0.6	-0.2	-0.5
BIO10	0.6	0.3	0.1	0.6	-0.3	0.2	-0.2	0.0	0.1	0.0	0.4	-0.5	-0.3	0.2	0.5
BIO11	0.3	0.2	0.0	-0.2	0.2	-0.1	0.8	0.0	-0.2	-0.1	-0.1	-0.2	-0.6	-0.3	-0.6
BIO12	0.2	0.1	0.1	0.5	-0.4	0.2	-0.6	0.0	0.2	0.1	0.4	-0.3	0.2	0.4	0.7
BIO13	0.4	0.2	0.1	0.6	-0.4	0.2	-0.5	0.0	0.2	0.0	0.4	-0.4	0.0	0.3	0.7
BIO14	0.0	0.0	0.1	0.4	-0.3	0.2	-0.7	0.0	0.2	0.1	0.3	-0.1	0.4	0.3	0.7
BIO15	0.4	0.2	0.1	0.6	-0.4	0.2	-0.5	0.0	0.2	0.0	0.4	-0.4	0.0	0.3	0.7
BIO16	0.3	0.1	0.1	0.6	-0.4	0.2	-0.6	0.0	0.2	0.0	0.4	-0.3	0.1	0.3	0.7
BIO17	-0.2	-0.1	0.0	0.3	-0.3	0.1	-0.8	0.0	0.2	0.1	0.2	0.1	0.5	0.3	0.7
BIO18	0.3	0.1	0.1	0.6	-0.4	0.2	-0.6	0.0	0.2	0.0	0.4	-0.3	0.1	0.3	0.7
BIO19	0.0	0.0	0.1	0.4	-0.3	0.2	-0.7	0.0	0.2	0.1	0.3	-0.1	0.4	0.3	0.7

I- p-Cimen; II- Limonen; III- 1,8-Cineol; IV- γ -Terpinen; V- cis-Sabinen hidrat; VI- Terpinolen; VII- Linalol; VIII- Borneol; IX- Terpinen-4-ol; X- p-Cimen-8-ol; XI- Karvakrol metil etar; XII- Karvakrol; XIII- Germakren D; XIV- β -Bisabolen; XV- Kariofilen oksid; masnim slovima su označene statistički značajne vrednosti veće od 0,6

Mantelov i parcijalni Mantelov test nisu pronašli korelacije između odabranih komponenti etarskog ulja i bioklimatskih parametara, kao ni između sastava etarskog ulja i geografskog regiona (Tabela 4.4.2.2.5).

Rezultati na ovako malom broju populacija ukazuju na to da je uočena korelacija više slučajna, pre nego posledica razlika u bioklimatskim parametrima.

Tabela 4.4.2.2.5. Mantelov i parcijalni Mantelov test

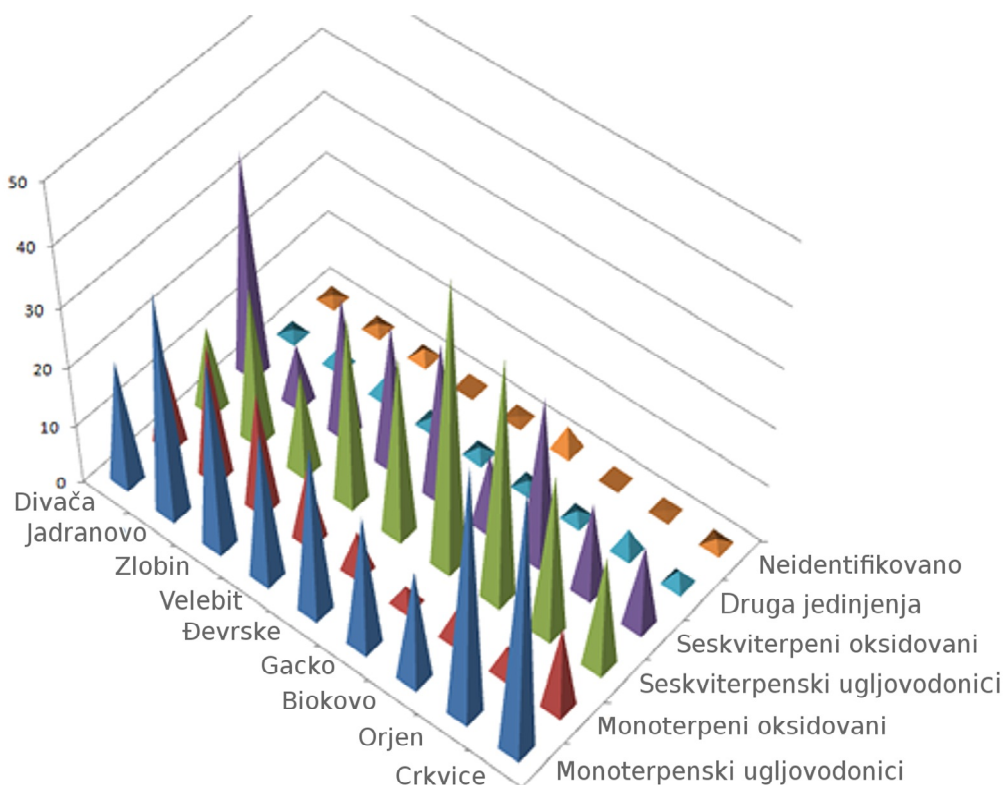
	Euklidske distance		Gowerove distance		Kvadrirane Mahalanobisove distance	
	R	P	R	P	R	P
EU+BIO	0.26	0.51	0.81	0.16	-0.36	0.67
EU+BIO-Geo	1.00	0.33	-1.00	0.50	-1.00	1.00
EU+Geo	-0.28	0.49	1.00	0.17	0.18	0.67

EU-profil etarskog ulja; BIO-bioklimatski parametri; Geo-geografski region

4.4.3.1. Hemijski sastav etarskog ulja *Satureja subspicata*

U etarskom ulju izolovanom iz nadzemnih delova jedinki vrste *S. subspicata* detektovano je 154 jedinjenja, od koji je 146 identifikovano. Međutim, po populaciji je u proseku detektovano između 40 do 83 jedinjenja, što predstavlja 89,0-98,5% ukupnog sastava etarskog ulja (Tabela 4.4.3.1.1, Prilog D4-5).

Dominantna grupa u sastavu etarskog ulja su seskviterpeni (50,4-68,8%). Kod većine populacija dominiraju seskviterpenski ugljovodonici, dok kod svega 2 populacije dominiraju oksidovani seskviterpeni (Slika 4.4.3.1.1). U populaciji Orjen su skoro podjednaka zastupljeni i monoterpeni i seskviterpeni, dok u populacijama Jadranovo, Zlobin i Crkvice dominiraju monoterpeni.



Slika 4.4.3.1.1. Procentualna zastupljenost grupa jedinjenja u sastavu etarskog ulja *S. subspicata*

Dva seskviterpena i jedan monoterpen su bila dominantno zastupljena u svim populacijama, (*E*)-kariofilen, kariofilen oksid i *α*-pinen. U populaciji Zlobin se pored pomenutih komponenti pojavljuju još i karvakrol metil etar i *p*-cimen. Populacije Jadranovo, Đevrske, Gacko i Crkvice se odlikuju manjim udelom kariofilen oksida ali

većim udelom komponenti koje ili nisu pronađene kod drugih populacija (viridiflorol u populaciji Đevrske) ili kod drugih imaju manji udeo u profilu etarskog ulja (γ -murolen najveći udeo u profilu populacije Gacko). Odlika profila etarskog ulja *S. subspicata* je da nema jednu glavnu komponentnu već više kodominantnih. U profilima etarskog ulja kod proučavanih populacija nijedna komponenta ne prelazi 50% sastava, već je udeo kodominantnih komponenti između 12,8 i 31,4% (zbirni uzorak Velebit (12,8%) i Orjen (31,4%)).

Profil komponenti sa udelom većim od 5% u etarskom ulju devet populacija *S. subspicata* su bili sledeći:

Divača: kariofilen oksid (24,2%) >> α -pinen (8,3%) = (*E*)-kariofilen (7,3%) = spatulenol (6,0%)

Jadranovo: α -pinen (13,3%) > borneol (9,9%) = germakren D (8,1%) = *trans*- β -ocimen (5,7%) = *cis*- β -Ocimen (5,5%) = (*E*)-kariofilen (5,5%)

Zlobin: kariofilen oksid (13,7%) >> karvakrol metil etar (7,1%) = *p*-cimen (7 %) = α -pinen (6,8%) = (*E*)-kariofilen (6,2%) = limonen (5,0%)

Velebit: kariofilen oksid (12,8%) > α -pinen (9,6%) = (*E*)-kariofilen (8,1%) = spatulenol (5,1%)

Đevrske: α -pinen (18,6%) = viridiflorol (15,1%) >> (*E*)-kariofilen (6,4%) = germakren D (5,9%)

Gacko: γ -murolen (15,6%) = α -pinen (14,9%) = (*E*)-kariofilen (11,2%) > neidentifikovano 6 (9,1%)

Biokovo: (*E*)-kariofilen (17,4%) > α -pinen (12,4%) > kariofilen oksid (8,3%) = (*E*)-nerolidol (5,3%)

Orjen: α -pinen (31,4%) >> neidentifikovano 7 (13,4%) > (*E*)-kariofilen (8,4%)

Crkvice: α -pinen (27%) >> limonen (9,2%) = (*E*)-kariofilen (8,6%) = linalol (6%)

Tabela 4.4.3.1.1. Sastav etarskog ulja izolovanog iz *S. subspicata*

	Divača n=15	Jadranovo n=29	Zlobin n=29	Velebit ^{c)} n=1	Đeverske n=15	Gacko n=10	Biokovo n=4	Orjen n=15	Crkvice n=15
1 Heksanal	-	-	-	-	-	-	0.3±0.0	1.4±0.8	0.2±0.2
2 Triciklen	tr	0.2±0.1	0.1±0.1	0.1±0.0	-	-	tr	tr	tr
3 <i>a</i> -Tujen	0.2±0.3	0.2±0.1	0.2±0.2	0.1±0.0	0.1±0.1	-	tr	tr	0.2±0.2
4 <i>a</i> -Pinen	8.3±5.9	13.3±5.8	6.8±3.7	9.6±0.0	18.6±9.4	14.9±7.3	12.4±0.7	31.4±11.2	27±11.2
5 Kamfen	1.1±0.6	4.4±1.7	3.1±2.2	3.3±0.0	2.1±5.4	0.2±0.1	0.6±0.5	0.8±0.9	1.4±1.2
6 Tuja-2,4(10)-dien	0.4±0.4	-	0.1±0.0	-	0.3±0.8	-	-	tr	tr
7 Sabinen	0.2±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1	-	tr	0.9±0.5	-	tr	0.2±0.2
8 β -Pinen	0.6±0.5	0.8±0.3	0.6±0.4	0.7±0.0	0.7±0.8	1.0±0.5	0.3±0.1	1.1±0.9	1.8±1.0
9 1-Okten-3-ol	1.3±0.0	0.6±0.3	0.7±0.5	-	0.4±0.3	-	0.1±0.1	0.5±0.3	-
10 6-metil-5-hepten-2-on	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
11 Mircen	0.5±0.6	1.0±0.6	0.8±0.4	0.4±0.0	1.1±0.4	0.5±0.0	1.1±0.6	1.5±0.5	2.0±0.9
12 Linalol oksid	-	0.3±0.1	0.4±0.3	-	-	-	-	-	-
13 Dehidro-1,8-Cineol	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
14 3-Oktanol	0.2±0.1	0.2±0.1	0.5±0.3	-	tr	-	-	-	-
15 <i>a</i> -Felandren	0.1±0.0	0.2±0.1	0.2±0.2	-	0.2±0.1	0.1±0.0	-	tr	tr
16 <i>a</i> -Terpinen	0.3±0.3	0.1±0.1	0.2±0.2	-	tr	-	tr	tr	0.3±0.4
17 <i>p</i> -Cimen	3.6±7.8	0.8±0.3	7.0±14.4	2.8±0.0	1.0±0.4	0.4±0.4	1.1±1.6	3.0±8.2	2.1±1.4
18 Limonen	4.0±4.0	4.2±2.1	5.0±2.8	4.8±0.0	2.6±2.3	1.7±1.0	2.6±2.5	4.2±2.5	9.2±5.1
19 1,8-Cineol	2.6±2.1	3.3±1.9	3.3±1.9	4.3±0.0	1.5±0.9	-	1.6±0.8	0.8±0.4	1.5±0.8
20 <i>cis</i> - β -Ocimen	2.0±3.0	5.5±2.1	3.3±2.0	1.6±0.0	1.0±1.3	1.9±0.6	1.0±0.6	0.4±0.4	0.4±0.4
21 Benzen acetaldehid	0.3±0.1	-	-	-	tr	-	0.4±0.0	0.1±0.1	-
22 <i>trans</i> - β -Ocimen	1.5±2.5	5.7±2.3	3.5±2.3	0.9±0.0	0.6±0.7	1.1±0.5	0.4±0.3	0.3±0.4	0.2±0.2
23 γ -Terpinen	1.3±3.7	0.5±0.3	1.0±2.2	0.8±0.0	0.2±0.1	0.2±0.2	-	0.5±0.9	0.6±1.1
24 Sabinen hidrat	1.2±1.2	1.6±0.9	1.2±0.6	0.3±0.0	0.4±0.3	tr	0.3±0.0	-	1.2±2.5
25 <i>cis</i> -Linalol oksid (furanoid)	0.2±0.1	-	0.3±0.3	-	-	-	-	0.1±0.2	0.2±0.3
26 Terpinolen	0.2±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	-	tr	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.1	-
27 6-Kamfenon	0.3±0.2	-	-	-	-	-	-	-	-
28 <i>trans</i> -Linalol oksid (furanoid)	0.2±0.1	-	0.5±0.3	-	-	-	-	-	0.3±0.4
29 <i>trans</i> -Sabinen hidrat	0.6±0.5	-	0.7±0.7	-	1.1±1.6	-	0.1±0.1	-	-
30 Linalol	0.8±0.6	1.7±2.1	1.1±1.2	-	0.5±0.5	1.2±0.7	0.8±0.4	0.5±0.5	6.0±12.1
31 2-Metil butil-2-metil butirat	0.2±0.1	-	-	-	-	-	-	-	-

nastavak tabele 4.4.3.1.1.

32	Izopentil izovalerat	-	-	-	-	0.2±0.1	0.3±0.1	-	0.2±0.1	0.2±0.1
33	2-Metil butil izovalerat	-	-	-	-	-	-	tr	0.1±0.1	0.1±0.0
34	1,3,8- <i>p</i> -Mentatrien	-	0.2±0.1	0.2±0.2	-	-	-	-	-	0.1±0.1
35	Okt-1-en-3-il acetat	-	-	0.1±0.0	-	-	0.2±0.2	-	0.3±0.5	0.2±0.1
36	3-Oktanol acetat	-	-	0.2±0.1	-	-	-	-	-	-
37	<i>α</i> -Kamfolenal	0.8±0.6	0.3±0.2	0.5±0.3	-	tr	-	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1
38	<i>trans</i> -Pinokarveol	0.5±0.3	0.4±0.2	0.4±0.2	-	0.3±0.1	-	0.1±0.1	0.5±0.1	0.3±0.2
39	<i>cis-p</i> -Menta-2-en-1-ol	-	-	0.2±0.1	-	0.1±0.0	-	-	-	-
40	alo-Ocimen	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-
41	<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0.2±0.1	-	0.1±0.0	-	-	-	-	tr	tr
42	<i>trans</i> -Verbenol	-	-	-	-	-	0.2±0.1	0.1±0.1	-	0.5±0.4
43	<i>cis</i> -Verbenol	0.3±0.2	-	0.2±0.1	-	-	0.1±0.0	-	0.3±0.1	0.2±0.1
44	Kamfor	2.4±1.2	1.6±1.2	2.3±1.5	1.3±0.0	0.1±0.1	-	-	-	-
45	<i>trans</i> -Pinokamfon	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
46	Pinokarvon	0.2±0.1	tr	0.1±0.1	-	tr	-	tr	0.2±0.1	0.1±0.1
47	Borneol	2.1±2.9	9.9±4.8	3.9±3.2	4.1±0.0	1.2±1.5	0.2±0.2	0.6±0.6	0.8±1.5	2.1±2.0
48	<i>p</i> -Menta-1,5-dien-8-ol	0.3±0.1	-	0.2±0.1	-	-	-	-	-	-
49	<i>cis</i> -Linalol oksid (piranoid)	-	-	0.2±0.1	-	-	-	-	-	-
50	<i>trans</i> -Linalol oksid (piranoid)	-	-	0.3±0.1	-	-	-	-	-	tr
51	Terpinen-4-ol	1.5±1.0	1.8±0.7	1.9±0.9	0.9±0.0	0.7±0.5	0.1±0.0	0.6±0.8	0.3±0.2	1.2±1.7
52	<i>p</i> -Cimen-8-ol	0.4±0.3	tr	0.5±0.5	-	-	-	-	0.1±0.1	0.2±0.1
53	<i>α</i> -Terpineol	0.6±0.3	0.9±0.5	0.7±0.5	0.4±0.0	0.6±0.6	0.1±0.1	2.2±0.0	0.3±0.3	0.5±0.3
54	<i>cis</i> -Dihidro karvon	-	-	-	-	0.1±0.0	-	-	-	-
55	Mirtenol	0.4±0.2	0.7±1.1	0.4±0.4	0.9±0.0	2.2±3.1	-	3.8±0.0	tr	0.1±0.0
56	Neidentifikovano 1	0.6±0.5	0.8±0.9	1.2±0.8	-	-	-	-	-	-
57	<i>trans</i> -Dihidro karvon	-	-	-	-	tr	-	-	0.1±0.1	-
58	Verbenon	1.4±1.1	0.4±0.3	0.8±0.7	-	-	tr	-	0.1±0.1	0.1±0.1
59	<i>β</i> -Ciklocitral	-	-	-	-	-	0.2±0.1	-	tr	-
60	<i>trans</i> -Karveol	0.9±0.5	tr	0.5±0.4	-	0.1±0.1	tr	-	-	-
61	Izobornil format	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.2	-	-	0.3±0.2	-	0.3±0.3	0.5±1.2
62	<i>cis</i> -Karveol	0.2±0.0	-	-	-	0.2±0.2	-	-	-	-
63	Nerol	-	-	0.9±0.0	-	-	-	-	-	-
64	Heksi 2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	0.5±0.8	0.2±0.2	0.2±0.2	0.1±0.1

nastavak tabele 4.4.3.1.1.

65	<i>cis-p</i> -Menta-1(7),8-dien-2-ol	-	-	tr	-	tr	0.9±1.2	-	-	-
66	Timol metil etar	-	-	0.1±0.0	-	-	-	-	0.2±0.0	-
67	Kumin aldehid	-	-	0.4±0.0	-	-	-	-	-	-
68	Karvon	0.5±0.2	-	0.3±0.3	-	0.3±0.3	-	-	-	-
69	Neral	0.2±0.1	-	0.4±0.0	-	-	-	-	0.6±0.0	1.3±0.0
70	Karvakrol metil etar	-	-	7.1±5.1	-	-	-	-	-	0.1±0.1
71	Timokinon	-	-	1.2±0.0	-	-	-	-	-	-
72	Geraniol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3±0.0
73	Geranial	0.3±0.2	-	0.3±0.1	-	-	-	-	0.7±0.0	1.9±0.0
74	Neidentifikovano 2	-	-	-	-	-	0.4±0.0	-	-	-
75	Bornil acetat	0.4±0.5	2.0±1.0	1.1±0.9	1.0±0.0	0.9±1.1	0.3±0.2	0.8±1.3	1.1±1.8	1.8±1.9
76	Timol	0.2±0.0	-	0.3±0.3	-	-	-	-	tr	-
77	<i>p</i> -Cimen-7-ol	0.2±0.0	-	0.4±0.4	-	-	-	-	tr	-
78	Karvakrol	0.6±0.4	-	1.2±2.5	-	0.2±0.1	0.7±0.6	-	0.2±0.2	-
79	Neidentifikovano 3	0.2±0.1	-	0.6±0.2	-	-	-	-	-	-
80	δ -Elemen	-	0.2±0.3	0.1±0.1	-	tr	0.4±0.5	0.1±0.0	-	-
81	α -Kubeben	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.1	-	0.2±0.1	0.2±0.2	0.4±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1
82	Neidentifikovano 4	-	0.2±0.1	-	-	-	-	-	-	2.4±2.9
83	Neidentifikovano 5	-	-	-	-	-	0.7±1.2	-	-	-
84	α -Ilangen	tr	tr	tr	-	0.2±0.1	-	-	0.2±0.3	tr
85	α -Kopaen	0.3±0.2	0.2±0.1	0.5±0.4	1.0±0.0	1.0±0.4	0.9±0.5	1.1±0.4	0.8±0.4	0.5±0.3
86	β -Bourbonen	1.2±0.9	1.0±0.7	2.0±1.2	2.2±0.0	2.3±1.1	2.6±0.9	3.7±1.2	3.2±1.5	1.7±0.7
87	β -Kubeben	0.4±0.6	-	0.1±0.1	-	0.1±0.1	0.3±0.1	0.1±0.0	tr	tr
88	β -Elemen	0.3±0.1	1.5±1.4	0.8±1.4	2.5±0.0	1.2±1.2	4.0±3.7	0.3±0.1	0.8±0.7	0.6±0.8
89	α -Gurjunen	1.7±2.2	0.5±0.8	0.5±0.7	0.6±0.0	0.6±0.6	0.5±0.1	0.1±0.1	0.3±0.4	tr
90	(<i>Z</i>)-Kariofilen	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
91	(<i>E</i>)-Kariofilen	7.3±8.6	5.5±2.8	6.2±4.6	8.1±0.0	6.4±3.3	11.2±5.1	17.4±11.6	8.4±3.9	8.6±5.8
92	β -Kopaen	0.3±0.2	0.3±0.1	0.3±0.2	0.6±0.0	0.8±0.4	0.7±0.0	1.4±0.3	0.9±0.4	0.5±0.3
93	Aromadendren	0.1±0.1	tr	-	0.1±0.0	0.3±0.5	-	0.2±0.2	tr	0.2±0.1
94	6,9-Guaiadien	-	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2±0.0	0.2±0.1	-	-	0.2±0.1	-
95	<i>cis</i> -Murola-3,5-dien	0.1±0.1	-	-	-	-	0.7±0.2	0.3±0.1	tr	0.1±0.1
96	<i>trans</i> -Murola-3,5-dien	-	-	-	-	-	0.2±0.1	-	-	0.1±0.0
97	α -Humulen	0.4±0.3	0.4±0.2	0.3±0.2	0.3±0.0	0.4±0.2	0.7±0.3	0.9±0.3	0.5±0.2	0.5±0.3

nastavak tabele 4.4.3.1.1.

98	alo-Aromadendren	0.3±0.3	0.4±0.3	0.3±0.2	0.2±0.0	0.2±0.2	1.2±1.2	0.3±0.2	0.6±1.3	0.3±0.2
99	<i>cis</i> -Kadina-1(6),4-dien	0.2±0.1	0.1±0.1	-	-	0.2±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.5±0.6	0.1±0.1
100	<i>cis</i> -Murola-4(14),5-dien	-	0.2±0.1	tr	0.7±0.0	0.2±0.1	0.2±0.0	0.3±0.1	0.4±0.5	-
101	γ -Gurjunen	-	0.2±0.1	-	-	-	-	-	-	-
102	γ -Murolen	0.3±0.3	0.4±0.2	0.3±0.2	-	1.4±0.6	15.6±5.1	1.6±0.7	1.4±0.8	0.5±0.3
103	Germakren D	1.5±1.8	8.1±6.2	2.9±2.1	4.9±0.0	5.9±3.8	-	4.3±0.4	2.1±1.7	1.7±1.2
104	β -Selinen	0.4±0.3	1.1±0.9	0.4±0.3	3.1±0.0	1.8±2.2	0.8±0.5	0.5±0.2	1.5±1.5	0.7±0.7
105	<i>trans</i> -Murola-4(14),5-dien	-	0.1±0.1	-	-	0.3±0.4	0.3±0.3	0.2±0.1	0.2±0.1	0.6±0.9
106	Biciklogermakren	0.7±0.9	1.5±1.5	0.8±0.4	4.2±0.0	2.6±2.5	-	2.0±1.6	-	-
107	Viridifloren	0.4±0.2	-	-	-	-	-	-	-	-
108	<i>cis</i> - β -Guaien	1.1±0.0	-	-	-	-	4.6±4.0	-	-	1.3±1.1
109	δ -Selinen	-	-	-	-	-	-	-	1.7±1.1	-
110	α -Selinen	-	2.8±1.4	0.7±0.3	-	4.4±2.9	-	-	-	-
111	α -Murolen	0.2±0.1	0.3±0.1	0.2±0.2	-	0.5±0.1	0.4±0.1	0.8±0.5	0.6±0.3	0.2±0.1
112	c-Kadinen / γ -Kadinen	-	-	-	-	-	-	-	1.4±0.9	-
113	Premnaspirodien	-	1.4±1.6	-	-	-	1.3±1.2	-	-	-
114	Germakren A	-	-	0.4±0.6	2.2±0.0	0.3±0.3	-	-	-	-
115	β -Bisabolen	0.3±0.2	0.4±0.3	0.2±0.3	-	0.2±0.1	0.3±0.3	-	0.2±0.0	0.3±0.3
116	γ -Kadinen	0.3±0.0	0.6±0.4	0.6±0.3	0.2±0.0	1.0±0.3	1.1±0.5	2.2±1.2	1.4±0.7	0.7±0.4
117	<i>trans</i> -Kalamenen	0.1±0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
118	δ -Kadinen	0.3±0.2	0.7±0.4	0.4±0.2	0.4±0.0	1.7±0.6	1.4±0.5	2.3±1.0	1.7±0.8	0.7±0.4
119	Dihidroaktinidiolid	0.1±0.1	-	-	-	-	-	-	0.2±0.1	-
120	<i>trans</i> -Kadina-1,4-dien	-	0.2±0.0	-	-	tr	0.2±0.1	0.2±0.0	0.1±0.0	-
121	α -Kadinen	-	tr	tr	-	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	tr
122	α -Kalakoren	-	tr	-	-	tr	-	0.1±0.1	0.1±0.1	tr
123	Elemol	-	-	-	-	0.3±0.5	-	-	-	-
124	(<i>E</i>)-Nerolidol	-	-	-	-	1.4±0.0	-	5.3±3.5	-	-
125	1- <i>nor</i> -Bourbonanon	-	-	0.1±0.1	-	-	-	-	0.9±2.4	tr
126	Neidentifikovano 6	0.3±0.1	0.2±0.4	0.1±0.1	-	0.1±0.0	9.1±18	-	0.1±0.0	1.4±2.2
127	Spatulenol	6.0±5.5	1.6±0.9	2.4±2.2	5.1±0.0	1.6±2.0	3.0±1.8	3.8±5.0	2.4±1.5	4.7±4.2
128	Kariofilen oksid	24.2±13.4	3.4±1.7	13.6±8.0	12.8±0.0	2.2±1.0	2.5±1.6	8.3±2.6	4.0±1.7	4.9±2.5
129	Viridiflorol	-	-	-	-	15.1±11.0	-	-	-	-
130	Neidentifikovano 7	-	-	-	-	-	-	-	13.4±3.8	-

nastavak tabele 4.4.3.1.1.

131	β -Kopaen-4- <i>a</i> -ol)	0.4±0.3	0.1±0.1	0.1±0.1	-	-	0.3±0.1	0.5±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1
132	Salvia-4(14)-en-1-on	0.5±0.3	0.2±0.2	0.4±0.3	0.6±0.0	0.3±0.2	0.3±0.1	0.6±0.2	0.5±0.2	0.3±0.2
133	Humulen epoksid II	0.9±0.4	0.3±0.2	0.7±0.4	-	0.1±0.0	0.4±0.2	0.7±0.3	0.3±0.3	0.4±0.2
134	β -Oplopenon	-	0.2±0.2	0.5±0.2	0.5±0.0	0.3±0.1	-	-	0.7±0.4	-
135	γ -Eudezmol	-	-	-	-	0.4±0.4	1.2±0.5	tr	-	-
136	1-epi-Kubenol	-	0.2±0.2	0.2±0.1	tr	0.4±0.2	-	0.6±0.3	0.6±0.6	-
137	Kariofila-3(15),7(14)-dien-6- <i>a</i> -ol	-	-	0.3±0.2	-	-	-	-	-	-
138	Kariofila-4(12),8(13)-dien5- β -ol	1.7±0.9	0.4±0.3	1.0±0.7	tr	0.5±0.3	-	1.6±0.6	-	-
139	epi- <i>a</i> -Kadinol	0.3±0.1	0.7±0.4	0.5±0.3	0.6±0.0	1.0±0.4	0.5±0.3	1.9±0.9	1.2±0.7	-
140	α -Murolol (=Toreiol)	-	0.3±0.3	0.4±0.2	0.3±0.0	0.4±0.4	2.1±0.7	0.7±0.3	1.3±1.0	0.7±0.4
141	β -Eudezmol	-	1.5±0.7	-	-	0.7±1.2	0.3±0.1	-	-	-
142	α -Eudezmol	-	-	-	-	4.7±0.0	0.5±0.2	-	-	-
143	α -Kadinol	-	0.7±0.2	0.9±0.3	2.4±0.0	1.8±0.7	0.3±0.5	2.5±1.1	-	0.9±0.5
144	Selin-11-en-4- <i>a</i> -ol	-	-	0.9±0.6	-	4.4±0.0	-	0.6±0.1	-	-
145	<i>trans</i> -Kalamenen-10-ol	-	0.4±0.3	-	-	0.2±0.1	1.9±0.7	-	-	-
146	Kadalen	-	0.3±0.0	0.1±0.1	-	0.2±0.1	-	-	-	-
147	Mustakon	-	-	0.2±0.2	-	-	-	-	-	-
148	Neidentifikovano 8	-	0.2±0.1	0.7±1.0	-	0.2±0.1	-	-	-	-
149	14-Hidroksi- β -Kariofilen	2.6±1.6	-	1.4±0.9	0.8±0.0	0.4±0.2	0.6±0.4	1.1±0.3	0.6±0.4	0.4±0.2
150	α -Bisabolol	0.6±0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
151	Eudezma-4(15),7-dien-1- β -ol	0.6±0.4	0.6±0.4	0.8±0.5	0.4±0.0	1.4±0.5	0.1±0.0	2.5±0.9	1.3±0.9	0.7±0.4
152	Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- <i>a</i> -ol	0.3±0.2	-	0.2±0.1	-	-	0.1±0.0	-	0.4±0.5	0.8±0.5
153	Heptadekan C17	0.1±0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
154	Amorfa-4,9-dien-2-ol	0.2±0.1	-	-	-	-	-	-	-	-

nastavak tabele 4.4.3.1.1.

Ukupni monoterpeni	37.2±19.3	59.6±11.4	51.6±15.3	37.2	35.2±10.9	25.3±9.6	24.4±8.7	47.6±14.7	59.2±15.7
<i>Monoterpeni ugljovodonici</i>	20.7±15.8	37.4±9.7	31.9±14.1	25.1	28.4±10.3	22.5±9.1	19.3±6.0	42.9±13.1	45.0±12.9
<i>Monoterpeni oksidovani</i>	16.5±8.2	22.3±5.9	19.7±5.1	12.2	6.8±3.4	2.8±0.8	5.1±3.1	4.6±2.3	14.2±15.7
Ukupni seskviterpeni	50.4±16.0	35.3±10.9	39.6±14.3	55.1	56.1±10.8	60.5±14.3	68.8±7.4	42.9±11.7	33.2±14.8
<i>Seskviterpeni ugljovodonici</i>	13.8±11.1	25.6±9.5	16.6±7.0	31.4	30.2±11.2	48.1±11.6	40.9±9.1	27.5±10.2	19.4±8.9
<i>Seskviterpeni oksidovani</i>	36.6±16.6	9.7±3.7	23.0±11.8	23.6	26.0±10.0	12.4±4.5	27.9±3.6	15.4±6.1	13.9±7.1
Druga jedinjenja	0.8±0.8	2.8±1.1	2.8±2.1	1	1.2±1.1	0.9±0.8	1.2±1.1	3.7±2.5	2.3±1.8
Neidentifikovana jedinjenja	0.6±0.5	0.8±0.9	1.5±1.2	0	0.2±0.1	4.0±11.3	0	0.1±0.1	0.9±1.8
UKUPNO	89.0±6.0	98.5±1.4	95.6±2.6	93.2	92.8±2.0	90.7±2.0	94.4±2.1	94.4±3.3	95.6±1.5
Ukupan broj jedinjenja	40-65	41-78	55-83	48	56-74	48-61	48-61	56-72	51-68

^{a)}Sadržaj svake komponente je dat kao procenat (srednja vrednost \pm SD) ukupnog sastava etarskog ulja, **tr** - tragovi ($0,05 < tr < 0,10\%$); - nije detektovano jedinjenje; jedinjenja koja su bila zastupljena sa manje od 0,05% nisu predstavljena u tabeli; masnim slovima su napisane vrednosti sa udelom u sastavu etarskog ulja preko 5%

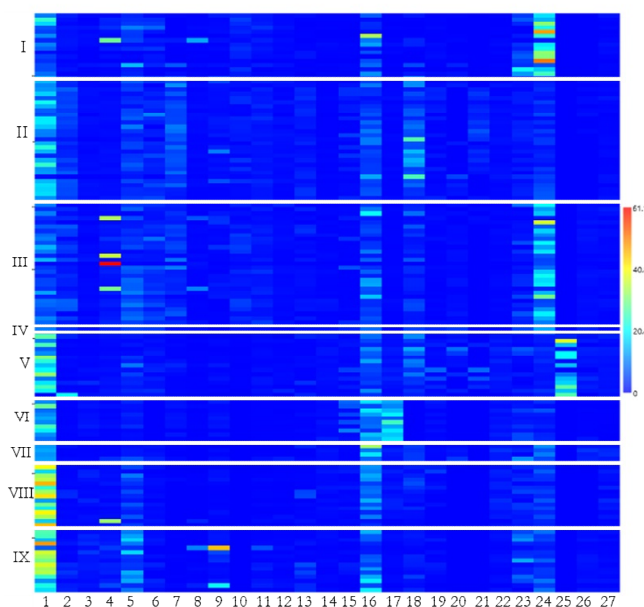
^{b)}alifatični ugljovodonici, alifatični aldehidi i alkoholi, alifatične kiseline i njihovi estri i aldehidi, aromatični estri, aromatični alkoholi, aril estri i aromatične kiseline

^{c)}populacija Velebit je predstavljena jednim zbirnim uzorkom

4.4.3.2. Varijabilnost etarskog ulja *Satureja subspicata*

Univarijantne analize

Matriks plot pokazuje da se kod podvrste *liburnica* ne izdvaja posebno nijedna komponenta etarskog ulja (Slika 4.4.3.2.1). α -Pinen, (*E*)-kariofilen i kariofilen oksid su jedinjenja zastupljena u većem procentu kod većine populacija, posebno je udeo kariofilen oksida velik kod populacija Divača i Jadranovo. Populacija Gacko se odvaja od svih ostalih populacija po većem udelu γ -murolena i β -elemena i manjem udelu kariofilen oksida. Viridiflorol je prisutan samo kod populacije Đevrske i on je odvaja od ostalih populacija. Takođe, vidi se da pojedine jedinke iz različitih populacija, uglavnom podvrste *liburnica*, imaju veliki udeo p -cimen. Udeo α -pinena je mnogo veći kod tipske podvrste.



Slika 4.4.3.2.1. Matriks plot *S. subspicata*
I-Divača; II-Jadranovo; III-Zlobin;
IV-Velebit; V-Đevrske; VI-Gacko;
VII-Biokovo; VIII-Orjen; IX-Crkvice

1- α -Pinen; 2- Kamfen; 3- β -Pinen;
4- p -Cimen; 5- Limonen; 6- 1,8-
Cineol; 7- *trans*- β -Ocimen; 8- γ -
Terpinen; 9- Linalol; 10- Kamfor;
11- Terpinen-4-ol; 12- α -Terpineol;
13- Bornil acetat; 14- α -Kopaen; 15-
 β -Elemen; 16- (*E*)-Kariofilen; 17- γ -
Murolen; 18- Germakren D; 19- β -
Selinen; 20- Biciklogermakren; 21- α -
Selinen; 22- δ -Kadinen; 23-
Spatulenol; 24-Kariofilen oksid; 25-
Viridiflorol; 26- α -Kadinol; 27-
Eudezma-4(15),7-dien-1- β -ol;

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 8 populacija vrste *Satureja subspicata* (Tabela 4.4.3.2.1). ANOVA sa podvrstama kao grupama je pronašla da se one statistički značajno razlikuju na 17 od 27 nekorelisanih komponenti etarskog ulja sa udelom većim od 0,5%.

Tabela 4.4.3.2.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 27 nekoreliranih komponenti etarskog ulja kod podvrsta *S. subspicata*

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>liburnica</i> n=89	<i>subspicata</i> n=44
<i>α</i> -Pinen	61.7	***	11.2±7.3	24.4±12.1
Kamfen	22.4	***	3.0±2.9	0.9±1.0
<i>β</i> -Pinen	23.5	***	0.6±0.5	1.2±0.9
<i>p</i> -Cimen	0.8	-	3.3±9.1	1.9±4.9
Limonen	2.7	-	4.1±2.8	5.2±4.5
1,8-Cineol	37.6	***	2.6±2.0	0.7±0.8
<i>trans</i> - <i>β</i> -Ocimen	43.7	***	3.2±2.9	0.3±0.5
<i>γ</i> -Terpinen	0.7	-	0.7±1.9	0.4±1.6
Linalol	3.4	-	1.0±1.5	2.5±7.4
Kamfor	64.9	***	1.7±1.4	-
Terpinen-4-ol	32.2	***	1.6±0.9	0.6±1.1
<i>α</i> -Terpineol	18.7	***	0.7±0.5	0.3±0.4
Bornil acetat	0.2	-	1.2±1.1	1.1±1.6
<i>α</i> -Kopaen	13.2	***	0.5±0.4	0.7±0.4
<i>β</i> -Elemen	2.0	-	1.0±1.3	1.4±2.3
(<i>E</i>)-Kariofilen	14.8	***	6.2±4.8	10.0±6.1
<i>γ</i> -Murolen	29.1	***	0.5±0.5	4.3±6.7
Germakren D	17.1	***	4.8±4.9	1.7±1.7
<i>β</i> -Selenin	0.2	-	0.8±1.2	0.7±0.9
Biciklogermakren	8.5	***	0.8±1.3	0.2±0.7
<i>α</i> -Selenin	12.9	***	0.9±1.7	-
<i>δ</i> -Kadinin	29.3	***	0.7±0.6	1.4±0.8
Spatulenol	3.4	-	2.4±3.0	3.5±3.1
Kariofilen oksid	12.5	***	10.2±10.7	4.4±2.6
Viridiflorol	5.5	**	2.5±7.2	-
<i>α</i> -Kadinol	0.0	-	0.6±0.7	0.6±0.8
Eudezma-4(15),7-dien-1- <i>β</i> -ol	1.1	-	0.8±0.5	0.9±0.9

ANOVA; Udeli terpena su dati kao srednja vrednost \pm SD; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

ANOVA sa populacijama kao grupama je pronašla statistički značajnu razliku na 25 od 27 komponenti etarskog ulja (Tabela 4.4.3.2.2). Urađena je i *post-hoc* analiza (Tukey's, $P < 0,05$) koja je dala preciznije rezultate. Pojedine komponente izdvajaju neke populacije od ostalih. Limonen odvaja populaciju Crkvice, *β*-elemen Gacko a (*E*)-kariofilen Biokovo. Neke komponente odvajaju samo nekoliko populacija, kao što je spatulenol koji diferencira populaciju Divaču od Đevrsaka, *β*-selenin Đevrske od Divače i Zlobina. Bornil acetat diferencira populaciju Jadranovo od populacija Divača i Gacko, a populaciju Gacko od Crkvice. *α*-Terpineol diferencira populaciju Jadranovo od populacija Gacko i Orjen. Ocimen diferencira populacije Divača, Jadranovo i Zlobin od ostalih. Generalno populacije ssp. *liburnica* se razlikuju od populacija tipske podvrste.

Tabela 4.4.3.2.2. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 27 nekoreliranih komponenti etarskog ulja kod podvrsta *S. subspicata*

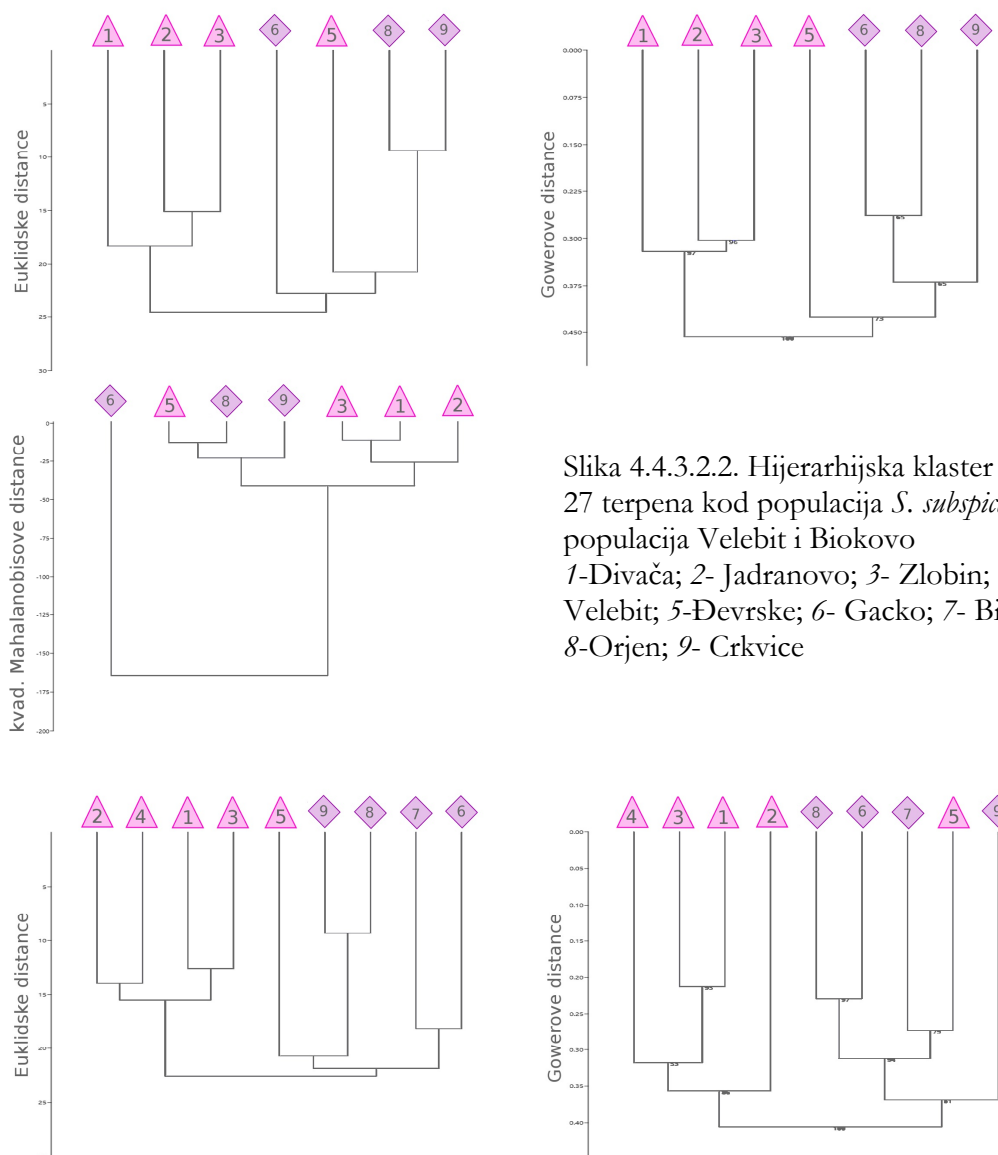
	<i>F</i>	<i>P</i>	Divača n=15	Jadranovo n=29	Zlobin n=29	Đeverske n=15	Gacko n=10	Biokovo n=4	Orjen n=15	Crkvice n=15
<i>α</i> -Pinen	22.8	***	8.3±5.9 ^w	13.3±5.8 ^w	6.8±3.7 ^w	18.6±9.4 ^w	14.9±7.3 ^w	12.4±0.7 ^w	31.4±11.2 ^{ef}	27.0±11.2 ^w
Kamfen	7.1	***	1.1±0.6 ^w	4.4±1.7 ^{ab}	3.1±2.2 ^w	2.1±5.4 ^w	0.2±0.1 ^a	0.6±0.5 ^{ac}	0.8±0.9 ^{ac}	1.4±1.2 ^{ac}
<i>β</i> -Pinen	8.1	***	0.5±0.5	0.8±0.4	0.6±0.4	0.7±0.8	1.0±0.5	0.3±0.1	1.1±0.9	1.8±1.0
<i>p</i> -Cimen	1.8	-	3.1±7.3 ^a	0.8±0.3 ^a	7.0±14.4 ^a	1.0±0.4 ^a	0.4±0.4 ^a	1.1±1.6 ^a	3.0±8.2 ^a	2.1±1.4 ^a
Limonen	7.7	***	4.0±4.0 ^a	4.2±2.1 ^a	5.0±2.8 ^a	2.6±2.3 ^a	1.7±1.0 ^a	2.6±2.5 ^a	4.2±2.5 ^a	9.2±5.1
1,8-Cineol	8.2	***	2.1±2.1 ^w	2.8±2.1 ^w	3.3±1.9 ^w	1.5±0.9 ^w	^w	1.6±0.8 ^w	0.8±0.5 ^w	1.0±1.0 ^w
<i>trans</i> - <i>β</i> -Ocimen	31.5	***	0.7±1.8 ^a	5.7±2.3	3.5±2.3	0.6±0.7 ^a	1.1±0.5 ^a	0.3±0.3 ^a	0.0±0.1 ^a	0.1±0.2 ^a
<i>γ</i> -Terpinen	0.8	-	1.1±3.4 ^a	0.5±0.3 ^a	1.0±2.2 ^a	0.2±0.1 ^a	0.2±0.2 ^a	^a	0.2±0.7 ^a	1.0±2.7 ^a
Linalol	2.8	***	0.5±0.6 ^{ab}	1.7±2.1 ^w	1.0±1.1 ^w	0.5±0.5 ^{ab}	1.2±0.7 ^w	0.6±0.5 ^{ab}	0.5±0.5 ^{ab}	6.0±12.1 ^{bc}
Kamfor	21.6	***	2.4±1.2 ^a	1.6±1.2 ^a	2.3±1.5 ^a	0.1±0.1 ^b	^b	^b	^b	^b
Terpinen-4-ol	10.2	***	1.4±1.0 ^w	1.8±0.7 ^w	1.9±0.9 ^w	0.7±0.5 ^w	0.1±0.0 ^w	0.3±0.6 ^w	0.2±0.2 ^w	1.2±1.6 ^w
<i>α</i> -Terpineol	3.9	***	0.6±0.3	0.8±0.5	0.7±0.5	0.6±0.6	0.1±0.1	0.6±1.1	0.2±0.3	0.5±0.3
Bornil acetat	4.8	***	0.4±0.5 ^w	2.0±1.0 ^w	1.0±0.9 ^w	0.9±1.1 ^w	0.3±0.2 ^w	0.8±1.3 ^w	1.1±1.8 ^w	1.8±1.9 ^w
<i>α</i> -Kopaen	13.3	***	0.3±0.2 ^{ab}	0.2±0.1 ^{ab}	0.5±0.4 ^w	1.0±0.4 ^{cd}	0.9±0.5 ^{cd}	1.1±0.4 ^{cd}	0.8±0.4 ^w	0.5±0.3 ^w
<i>β</i> -Elemen	7.3	***	0.2±0.2 ^a	1.4±1.4 ^a	0.8±1.4 ^a	1.2±1.2 ^a	4.0±3.7	0.3±0.1 ^a	0.8±0.7 ^a	0.6±0.8 ^a
(<i>E</i>)-Kariofilen	4.0	***	7.3±8.6 ^{ab}	5.5±2.8 ^{ab}	6.2±4.6 ^{ab}	6.4±3.3 ^{ab}	11.2±5.1 ^w	17.4±11.6 ^c	8.4±3.9 ^{ab}	8.6±5.8 ^{ab}
<i>γ</i> -Murolen	145.7	***	0.2±0.3 ^a	0.4±0.2 ^a	0.3±0.2 ^a	1.4±0.6 ^a	15.6±5.1	1.6±0.7 ^a	1.4±0.8 ^a	0.5±0.3 ^a
Germakren D	12.0	***	1.0±1.6 ^w	8.1±6.2 ^w	2.9±2.1 ^w	5.9±3.8 ^w	^w	4.3±0.4 ^w	2.1±1.7 ^w	1.7±1.2 ^w
<i>β</i> -Selinen	3.4	***	0.4±0.3 ^{ab}	1.0±0.9 ^w	0.3±0.3 ^{ab}	1.8±2.2 ^{bc}	0.8±0.5 ^w	0.5±0.2 ^w	0.8±1.3 ^w	0.7±0.7 ^w
Biciklogermakren	5.4	***	0.3±0.7 ^w	0.6±1.2 ^w	0.7±0.4 ^w	1.7±2.4 ^w	^w	2.0±1.6 ^w	^w	^w
<i>α</i> -Selinen	9.4	***	^{ac}	2.0±1.7 ^{bc}	0.1±0.2 ^{ac}	1.5±2.6 ^w	^{ac}	^{ac}	^{ac}	^{ac}
<i>δ</i> -Kadinen	23.8	***	0.2±0.2 ^a	0.7±0.4 ^a	0.4±0.2 ^a	1.6±0.8 ^{bd}	1.4±0.5 ^{bd}	2.3±1.0 ^{cd}	1.7±0.8 ^w	0.7±0.4 ^a
Spatulenol	3.9	***	5.2±5.5 ^{ab}	1.6±0.9 ^w	2.2±2.2 ^w	1.5±2.0 ^{bc}	3.0±1.8 ^w	3.8±5.0 ^w	2.4±1.5 ^w	4.7±4.2 ^w
Kariofilen oksid	25.8	***	24.2±13.4	3.4±1.7 ^{ac}	13.7±8.0 ^{bc}	2.2±1.0 ^{ac}	2.5±1.6 ^{ac}	8.3±2.6 ^w	4.0±1.7 ^{ac}	4.9±2.5 ^{ac}
Viridiflorol	31.5	***	^a	^a	^a	15.1±11	^a	^a	^a	^a
<i>α</i> -Kadinol	29.0	***	^{ad}	0.2±0.3 ^{ad}	0.9±0.3 ^w	1.4±1.0 ^{bc}	0.3±0.4 ^w	2.5±1.1	^{ad}	0.9±0.5 ^{bc}
Eudezma-4(15),7-dien-1- <i>β</i> -ol	14.3	***	0.5±0.4 ^w	0.6±0.4 ^w	0.8±0.5 ^w	1.4±0.5 ^w	0.1±0.1	2.5±0.9 ^w	1.2±0.9 ^w	0.7±0.4 ^w

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e,f,w} grupe su prema *post-hoc* testu ($P<0,05$), pri čemu u grupu ^w su smešteni svi oni koji se nalaze u više od dve grupe; Udeli terpena su dati kao srednja vrednost ± SD; *** $P<0,01$;

¹⁾ populacija Velebit je predstavljena sa jednim zbirnim uzorkom za etarska ulja, tako da nije uzeta u obzir u ovoj analizi

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 27 nekoreliranih komponenti etarskog ulja (kvadrirane Mahalanobisove distance, Euklidske i Gowerove distance) pokazuje odvajanje dve podvrste, posebno na druga dva tipa distanci (Slika 4.4.3.2.2.). Kvadrirane Mahalanobisove distance, iako pokazuju odvajanje podvrsta, takođe, izdvajaju populaciju Gacko kao najrazličitiju. Prilikom ovih analiza nisu korišćene populacije Velebit i Biokovo zbog malog broja jedinki. Populacija Đevrske se grupiše sa podvrstom *subspicata*. Urađene su dodatne analize sa Euklidskim i Gowerovim distancama kao i sa uključenim populacijama Velebit i Biokovo. Ove analize su pokazale grupisanje u dve klade prema pripadnosti podvrsti (Slika 4.4.3.2.2.).



Slika 4.4.3.2.2. Hijerarhijska klaster analiza 27 terpena kod populacija *S. subspicata* bez populacija Velebit i Biokovo
1-Divača; 2- Jadranovo; 3- Zlobin; 4- Velebit; 5-Đevrske; 6- Gacko; 7- Biokovo; 8-Orjen; 9- Crkvice

Analiza glavnih komponenti (PCA)

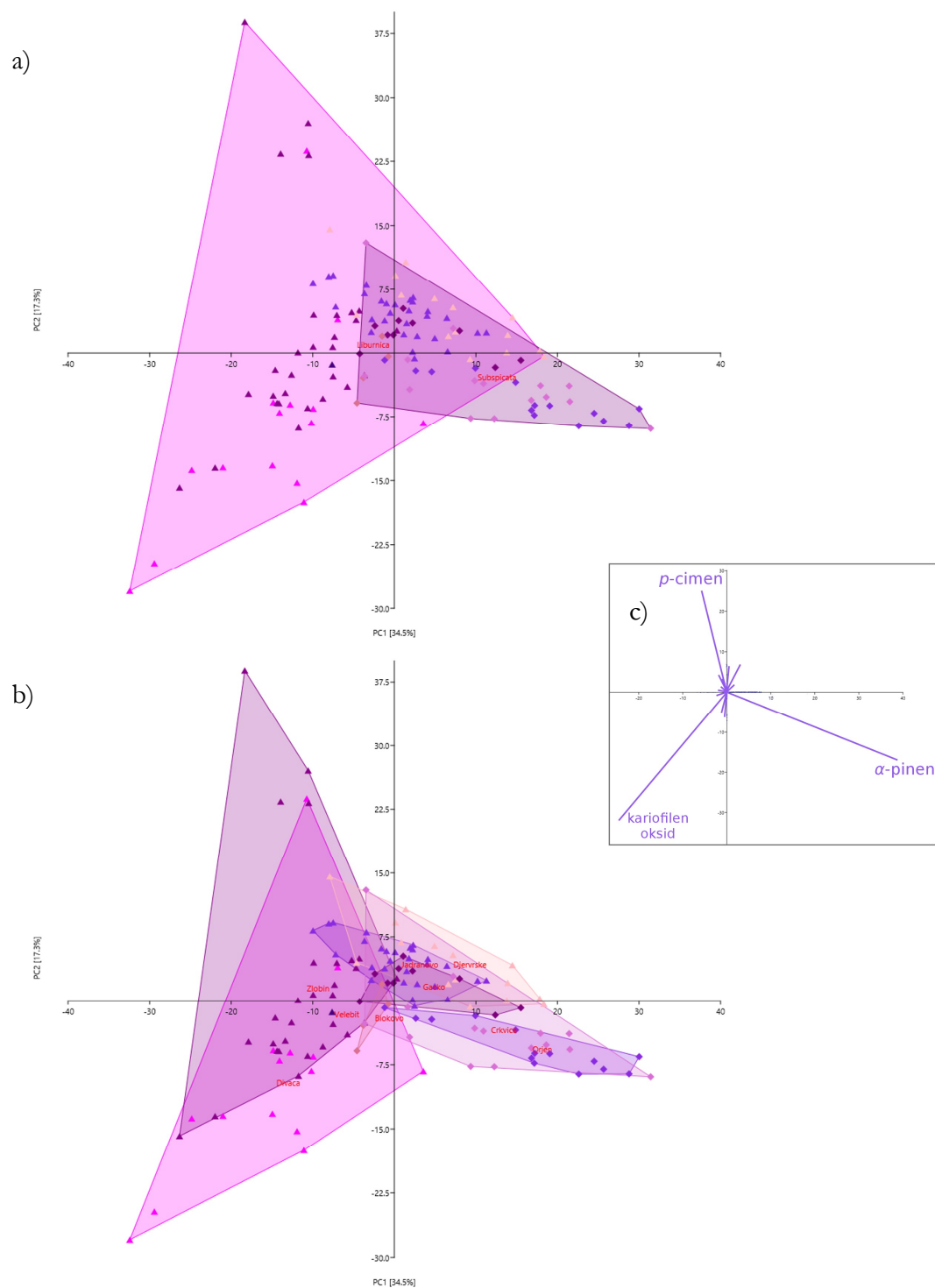
Tabela 4.4.3.2.3. Udeo 27 terpena u prva tri vektora kod *S. subspicata*

	PC 1	PC 2	PC 3
<i>α</i>-Pinen	0.83	-0.36	0.32
Kamfen	-0.02	0.07	-0.08
<i>β</i> -Pinen	0.03	0.00	0.01
<i>p</i>-Cimen	-0.12	0.54	0.74
Limonen	0.05	-0.03	0.08
1,8-Cineol	-0.04	0.01	-0.01
<i>trans</i> - <i>β</i> -Ocimen	-0.04	0.09	-0.12
<i>γ</i> -Terpinen	-0.02	0.10	0.08
Linalol	0.01	0.08	0.04
Kamfor	-0.05	-0.02	0.00
Terpinen-4-ol	-0.03	0.03	0.00
<i>α</i> -Terpineol	-0.01	0.01	0.00
Bornil acetat	0.02	0.01	-0.02
<i>α</i> -Kopaen	0.01	0.00	-0.02
<i>β</i> -Elemen	0.02	0.04	-0.05
(<i>E</i>)-Kariofilen	-0.01	-0.14	-0.21
<i>γ</i> -Murolen	0.04	0.04	-0.13
Germakren D	0.01	0.14	-0.29
<i>β</i> -Selinen	0.01	0.02	-0.02
Biciklogermakren	-0.01	0.02	-0.04
<i>α</i> -Selinen	0.01	0.04	-0.05
<i>δ</i> -Kadinen	0.02	0.00	-0.03
Spatulenol	-0.03	-0.11	0.02
Kariofilen oksid	-0.52	-0.69	0.31
Viridiflorol	0.07	0.14	-0.26
<i>α</i> -Kadinol	0.00	0.01	-0.02
Eudezma-4(15),7-dien-1- <i>β</i> -ol	0.00	0.00	-0.02

masnim slovima su napisane najveće vrednosti

Varijabilnost sastava proučavanih 27 komponenti etarskog ulja kod 133 individa je utvrđivana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 52 % ukupne varijabilnosti sa 3 komponente, *α*-pinen, *p*-cimen i kariofilen oksid (Slika 4.4.3.2.4). Podvrsta *liburnica* je pokazala veliku varijabilnost u sastavu etarskog ulja. Velika većina populacija ove podvrste se grupisala na osi koja je u vezi sa količinom kariofilen oksida, posebno su neke jedinice iz populacije Divača bogate ovom komponentom. Nekoliko jedinki, uglavnom iz populacija Jadranovo i Divača, imaju veći udeo *p*-cimen i grupisane su suprotno od populacija bogatih kariofilenom. Nasuprot podvrsti *liburnica*,

podvrsta *subspicata* je pokazala manju varijabilnost. Jedinice ove podvrste su se grupisale na liniji većeg udela *α*-pinena, dok su udeli *p*-cimen i kariofilen oksida bili slični. Najveća varijabilnost sastava je primećena kod populacija Divača i Zlobin (podvrsta *liburnica*) i Crkvice (podvrsta *subspicata*). Populacija Crkvice se potpuno preklapa sa populacijom Orjen, dok je delimično preklapanje kod populacija Jadranovo (podvrsta *liburnica*), Gacko i Biokovo (podvrsta *subspicata*) koje se grupišu na sredini scatter plot. Populacija Đeverske se izdvaja od ostalih po količini viridiflorola.



Slika 4.4.3.2.4. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA)

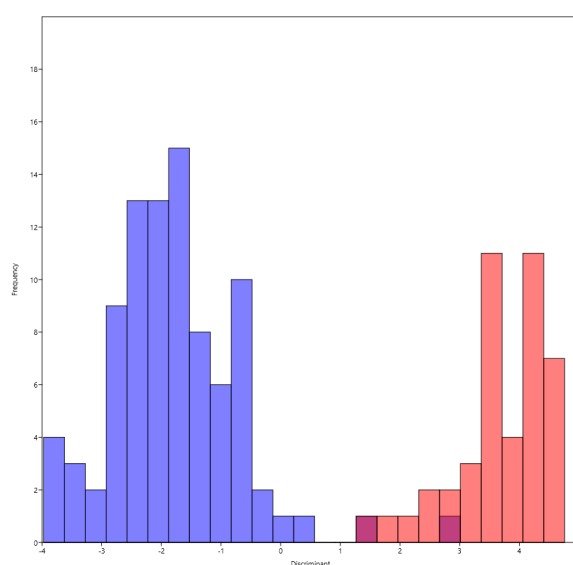
a) podvrste b) populacije c) aigenvektori

ssp. *liburnica*: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Deverske; ssp. *subspicata*:

◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice;

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. DA sa podvrstama kao grupama je pokazala kompletno odvajanje dve podvrste, ali sa izvesnom zonom preklapanja (dve jedinke iz populacije Đevrske se grupišu sa populacijama podvrste *subspicata*) (Slika 4.4.3.2.5). Distribucija jedinjenja pokazuje da odvajanju najvećim delom doprinosi α -pinen u pozitivnom smeru, a kariofilen oksid u negativnom. Pored njih još 4 komponente doprinose diferencijaciji ove dve podvrste (*trans*- β -Ocimen, (*E*)-kariofilen, γ -murolen, germakren D).

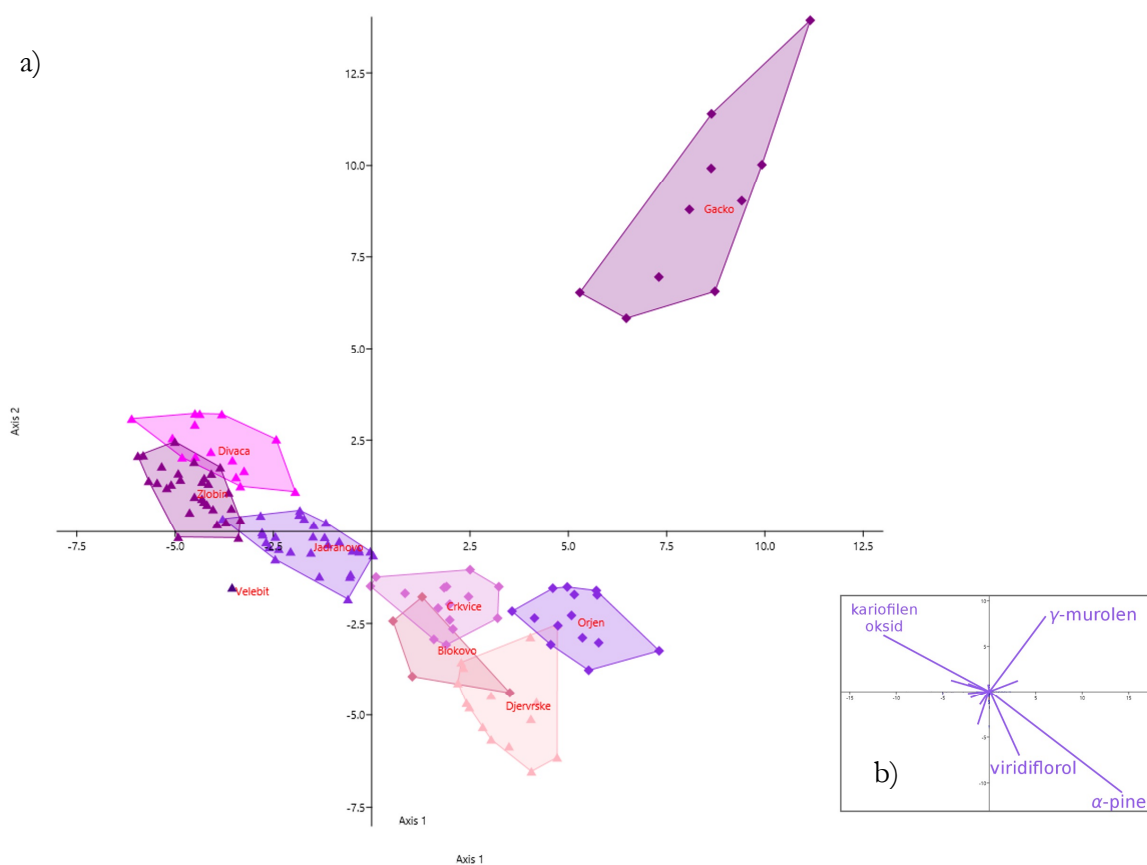


Slika 4.4.3.2.5. Histogram diskriminantne analize sa podvrstama *S. subspicata* (ssp. *liburnica* i ssp. *subspicata*)

Diskriminantna analiza sa populacijama kao grupama je pokazala gotovo potpunu diferencijaciju populacija (Slika 4.4.3.2.6). Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 44 %, dok druga objašnjava oko 28% ukupne varijabilnosti. DA je istakla 4 komponente koje najviše doprinose odvajanju populacija a to su α -pinen, γ -murolen, kariofilen oksid i viridiflorol. Scatter plot pokazuje jako odvajanje populacije Gacko od svih populacija po velikoj količini γ -murolena. Populacija Đevrske (podvrsta *liburnica*) se grupisala sa populacijama tipske podvrste, ali se od njih izdvaja po količini viridiflorola, na trećoj osi. Matrica konfuzije je pokazala da većina jedinki ostaje u svojim zadatim grupama, samo po 1 jedinka prelazi iz populacije Divača u Zlobin i obrnuto, takođe 1 jedinka prelazi iz populacije Đevrske u Orjen (Tabela 4.4.3.2.4).

Tabela 4.4.3.2.4. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, populacije su grupe.

	Divača	Jadranovo	Zlobin	Velebit	Đevrske	Gacko	Biokovo	Orjen	Crkvice	Σ
Divača	14	0	1	0	0	0	0	0	0	15
Jadranovo	0	29	0	0	0	0	0	0	0	29
Zlobin	1	0	28	0	0	0	0	0	0	29
Velebit	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Đevrske	0	0	0	0	14	0	0	1	0	15
Gacko	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10
Biokovo	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4
Orjen	0	0	0	0	0	0	0	14	0	14
Crkvice	0	0	0	0	0	0	0	0	15	15
Σ	15	29	29	1	14	10	4	15	15	132



Slika 4.2.3.2.4. Scatter plot diskriminantne analize svih populacija

a) sve populacije; b) glavne komponente; ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice;

Bioklimatski podaci

Rezultati jednostavne linearne regresione analize odabranih nekorelisanih komponenti etarskog ulja sa bioklimatskim paramterima i nadmorskom visinom su pokazali da postoji statistički značajana korelacija pojedinih komponenti sa nekoliko bioklimatskih parametara. Primećene korelacije su najverovatnije posledica slučajnosti, s obzirom da je reč o komponentama koje su se nalazile u manji količinama. Viridiflorol, koji se javlja samo u populaciji Đevrske, je u korelaciji sa nekoliko bioklimatskih parametara, ove korelacije su verovatno posledica veće razlike između te populacije i drugih populacija nego što je realna korelacija sa bioklimatskim parametrima. δ -Kadinen je pokazao negativnu a kamfor pozitivnu korelaciju sa parametrima vezanim za padavine (BIO14, BIO17 i BIO18), dok je α -pinen je imao negativnu korelaciju sa BIO4 i BIO14 parametrima.

Mantelov i parcijalni Mantelov test su pokazali i potvrdili rezultate linearne regresije, ondsone da nema korelacije između profila etarskog ulja i bioklimatskih parametara (Tabela 4.4.3.2.5). Međutim, uočena je slaba geografska korelacija. Ova korelacija je vidljiva i kada su uljučene i kada su isključene populacije Velebit i Biokovo. Kvadrirane Mahalanobisove distance bez pomenute dve populacije i populacije Gacko koja ima drugačiji sastav etarskog ulja, pokazale su visoku statistički značajnu korelaciju sa geografskim regionom.

Tabela 4.4.3.2.5. Rezultati Mantelovog i parcijalnog Mantelovog testa

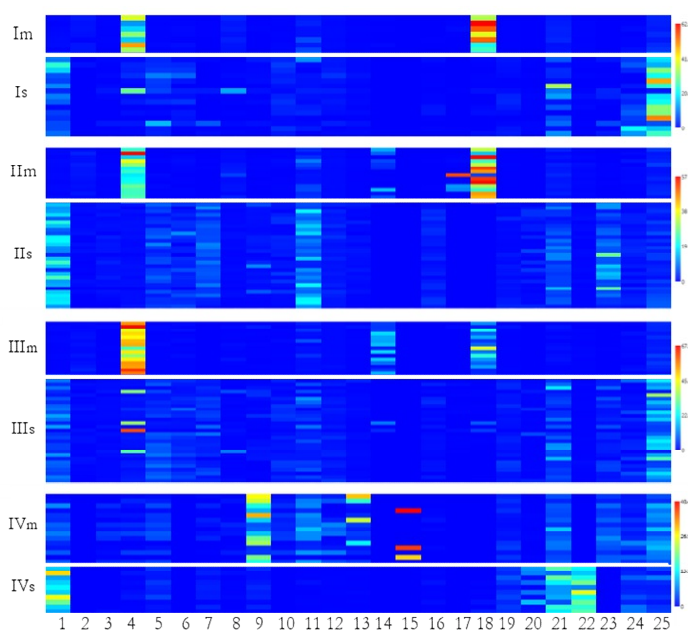
	Bez Velebita i Biokova						Sa Velebitom i Biokovom			
	E		G		KM		E		G	
	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P
EU+BIO	0.27	0.12	0.31	0.09	-0.21	0.84	0.32	0.05	0.09	0.32
EU+BIO-Geo	0.25	0.15	0.29	0.11	-0.25	0.93	0.30	0.07	0.03	0.45
EU+Geo	0.51	0.02	0.50	0.04	0.18	0.04	0.60	0.00	0.47	0.01
EU+GEO-Gacko	0.68	0.02	0.40	0.10	0.76	0.01	0.64	0.01	0.37	0.05

EU-profil etarskog ulja; BIO-bioklimatski parametri; Geo-geografski region; E- Euklidske distance; G-Gowerove distance; KM - Kvadrirane Mahalanobisove distance

4.4.4. Diferencijacija simpatrijskih populacija na osnovu sastava etarskog ulja

Univarijantne analize

Matriks plot pokazuje jasnu razliku između populacija koje žive na istim lokalitetim (Slika 4.4.4.1). Vidi se da se populacije *S. montana* razlikuju od populacija *S. subspicata* po većim količinama *p*-cimen i karvakrola, na svim lokalitetim sem lokaliteta Gacko (dominante komponente su linalol, *α*-terpineol, geraniol).



Slika 4.4.4.1. Matriks plotovi simpatrijskih populacija Divača: *montana* (Im) i *subspicata* (Is); Jadranovo: *montana* (IIIm) i *subspicata* (IIs); Zlobin: *montana* (IIIIm) i *subspicata* (IIIs); Gacko: *montana* (IVm) i *subspicata* (IVs); 1- *α*-Pinen; 2- 1-Okten-3-ol; 3- Mircen; 4- *p*-Cimen; 5- Limonen; 6- 1,8-Cineol; 7- *trans*- β -Ocimen; 8- γ -Terpinen; 9- Linalol; 10- Kamfor; 11- Borneol; 12- Terpinen-4-ol; 13- *α*-Terpineol; 14- Karvakrol metil etar; 15- Geraniol; 16- Bornil acetat; 17- Timol; 18- Karvakrol; 19- β -Bourbonen; 20- β -Elemen; 21-(*E*)-Kariofilen; 22- γ -Murolen; 23- Germakren D; 24-Spatulenol; 25- Kariofilen oksid;

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa svih 8 simpatrijskih populacija vrste *Satureja montana* i *S. subspicata* i 25 odabranih nekorelisanih komponenti (Tabela 4.4.4.1). Pokazana je diferencijacija svih simpatrijskih populacija na osnovu 24 od 25 komponenti. Urađena je i *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$). Svi parovi populacija se razlikuju na osnovu *α*-pinena i kamfora. Simpatrijske populacije sa lokaliteta Divača se razlikuju na osnovu 11 komponenti, Jadranovo 12, Zlobin 14, a dva taksona na lokalitetu Gacko se razlikuju između sebe na osnovu 13 komponenti.

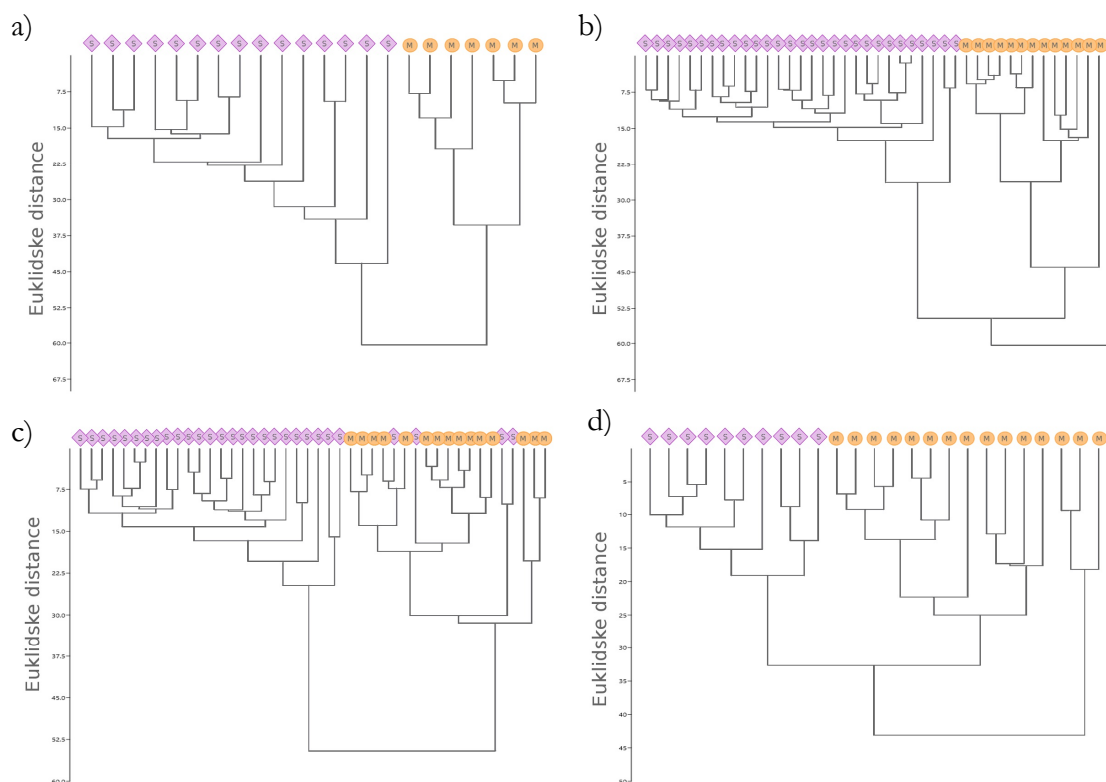
Tabela 4.4.4.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* testa za 25 nekoreliranih komponenti etarskog ulja kod simpatrijskih populacija vrsta *S. montana* i *S. subspicata*

	<i>F</i>	<i>P</i>	Divača		Jadranovo		Zlobin		Gacko	
			<i>variegata</i> n=7	<i>liburnica</i> n=15	<i>montana</i> n=14	<i>liburnica</i> n=29	<i>montana</i> n=15	<i>liburnica</i> n=29	<i>montana</i> n=15	<i>subspicata</i> n=10
<i>α</i> -Pinen	26.9	***	0.5±0.2	8.3±5.9	0.5±0.1	13.3±5.8	0.4±0.1	6.8±3.7	3.1±2.3	14.9±7.3
1-Okten-3-ol	20.3	***	1.3±0.5	0.1±0.3	1.2±0.5	0.5±0.4	1.1±0.7 ^a	0.6±0.5 ^a	- ^a	- ^a
Mircen	9.9	***	0.2±0.1 ^a	0.4±0.6 ^a	0.2±0.1	1.0±0.6	0.1±0.2	0.8±0.4	1.0±1.0	0.1±0.2
<i>p</i> -Cimen	60.3	***	28.5±13.5	3.1±7.3	25.7±10.5	0.8±0.3	50.2±9.8	7.0±14.4	1.2±1.1 ^a	0.4±0.4 ^a
Limonen	13.4	***	0.3±0.1	4.0±4.0	0.2±0.2	4.2±2.1	0.4±0.1	5.0±2.8	2.2±1.5 ^a	1.7±1.0 ^a
1,8-Cineol	14.9	***	0.5±0.3	2.1±2.1	0.3±0.2	2.8±2.1	0.4±0.3	3.3±1.9	-	-
<i>trans</i> -β-Ocimen	33.6	***	0.1±0.0 ^a	0.7±1.8 ^a	-	5.7±2.3	-	3.5±2.3	0.5±0.7 ^a	1.1±0.5 ^a
γ-Terpinen	1.4	-	1.9±0.5 ^a	1.1±3.4 ^a	1.4±1.1 ^a	0.5±0.3 ^a	0.4±0.4 ^a	1.0±2.2 ^a	0.5±0.6 ^a	0.2±0.2 ^a
Linalol	34.1	***	0.1±0.1 ^a	0.5±0.6 ^a	0.1±0.1 ^a	1.7±2.1 ^a	0.3±0.6 ^a	1.0±1.1 ^a	14.6±9.1	1.2±0.7
Kamfor	14.5	***	0.3±0.1	2.4±1.2	0.2±0.2	1.6±1.2	0.2±0.2	2.3±1.5	1.6±1.1	-
Borneol	17.9	***	2.9±2.0 ^a	2.0±2.8 ^a	3.4±2.3	9.9±4.8	1.9±1.8 ^a	3.9±3.2 ^a	5.6±2.9	0.2±0.2
Terpinen-4-ol	7.9	***	0.7±0.1 ^a	1.4±1.0 ^a	0.6±0.1 ^a	1.8±0.7 ^a	0.7±0.1 ^a	1.9±0.9 ^a	2.5±2.6	0.1±0.0
<i>α</i> -Terpineol	7.6	***	0.2±0.1 ^a	0.6±0.3 ^a	0.2±0.1 ^a	0.8±0.5 ^a	0.3±0.3 ^a	0.7±0.5 ^a	6.8±9.4	0.1±0.1
Karvakrol metil etar	23.5	***	0.2±0.2	-	3.8±4.8	-	10.1±6.8	0.5±2.1	-	-
Geraniol	3.9	***	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	7.1±14.9	-
Bornil acetat	25.7	***	0.1±0.0 ^a	0.4±0.5 ^a	-	2.0±1.0	-	1.0±0.9	0.1±0.2 ^a	0.3±0.2 ^a
Timol	2.5	**	0.2±0.2 ^a	0.0±0.1 ^a	5.3±13.8	-	0.1±0.2 ^a	0.1±0.3 ^a	- ^a	- ^a
Karvakrol	71.5	***	41.8±15.4	0.3±0.4	36.9±16.3	-	13.1±10.6	0.5±1.7	- ^a	0.3±0.5 ^a
β-Bourbonen	16.5	***	0.2±0.0	1.2±0.9	0.1±0.1 ^a	1.0±0.7 ^a	0.3±0.4	2.0±1.2	1.5±0.9	2.6±0.9
β-Elementen	11.9	***	- ^a	0.2±0.2 ^a	- ^a	1.4±1.4 ^a	- ^a	0.8±1.4 ^a	0.1±0.1	4.0±3.7
(<i>E</i>)-Kariofilen	8.5	***	2.0±0.6	7.3±8.6	1.6±0.7 ^a	5.5±2.8 ^a	0.7±0.5	6.2±4.6	4.5±2.0	11.2±5.1
γ-Murolen	163.0	***	0.3±0.1 ^a	0.2±0.3 ^a	0.4±0.2 ^a	0.4±0.2 ^a	0.3±0.1 ^a	0.3±0.2 ^a	-	15.6±5.1
Germakren D	17.7	***	-	1.0±1.6	0.1±0.1	8.1±6.2	-	2.9±2.1	4.0±1.5	-
Spatulenol	7.0	***	0.4±0.4	5.2±5.5	0.4±0.4 ^a	1.6±0.9 ^a	0.5±0.5 ^a	2.2±2.2 ^a	2.2±1.7 ^a	3.0±1.8 ^a
Kariofilen oksid	27.2	***	2.8±0.9	24.2±13.4	2.3±1.1 ^a	3.4±1.7 ^a	3.0±1.1	13.6±8.0	6.4±2.4 ^a	2.5±1.6 ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^a grupa je prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$) u okviru parova simpatrijskih populacija; Udeli terpena su dati kao srednja vrednost ± SD; masnim slovima su označena jedinjenja koja razlikuju simpatrijske populacije međusobno; *** $P < 0,01$; ** $0,01 < P < 0,05$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 25 odabranih komponenti etarskog ulja je pokazao odvajanje svih simpatrijskih populacija korišćenjem Euklidskih distanci (Slika 4.4.4.2). Međutim, u slučaju lokaliteta Gacko i Jadranovo vidimo da postoje jedinke koje se drastično razlikuju od ostalih. Kod populacija na lokalitetu Zlobin vidimo da se mešaju 4 jedinke *S. subspicata* sa jedinkama *S. montana*, zbog velikog udela *p*-cimena prisutnog u etarskom ulju kod ovih jedinki. Gowerove distance su dale slične rezultate, opšta varijabilnost komponenti kod ove simpatrijske populacije je slična.



Slika 4.4.4.2. Hijerarhijska klaster analiza 25 terpena; Euklidske distance; *S. subspicata* i *S. montana* a) Divača; b) Jadranovo; c) Zlobin; d) Gacko;

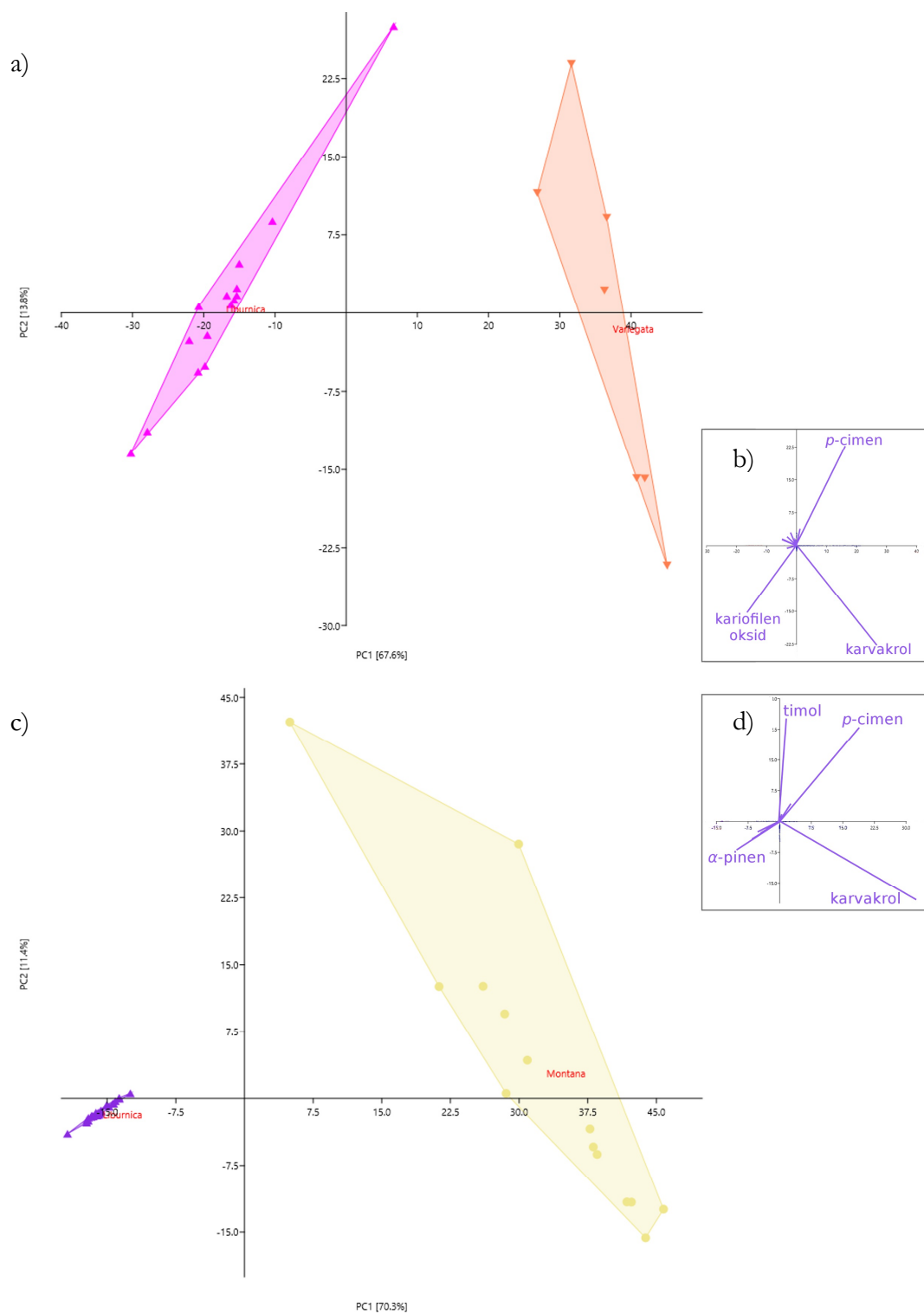
Analiza glavnih komponenti (PCA)

Varijabilnost sastava proučavanih 25 odabranih nekorelisanih komponenti etarskog ulja kod 8 simpatrijskih populacija je analizirana korišćenjem analize glavnih komponenti (PCA). Analiza je pokazala odvajanje vrsta *S. montana* i *S. subspicata*. U populaciji Divača prve dve ose objašnjavaju oko 81 % ukupne varijabilnosti, odvajanje vrsta je na osnovu *p*-

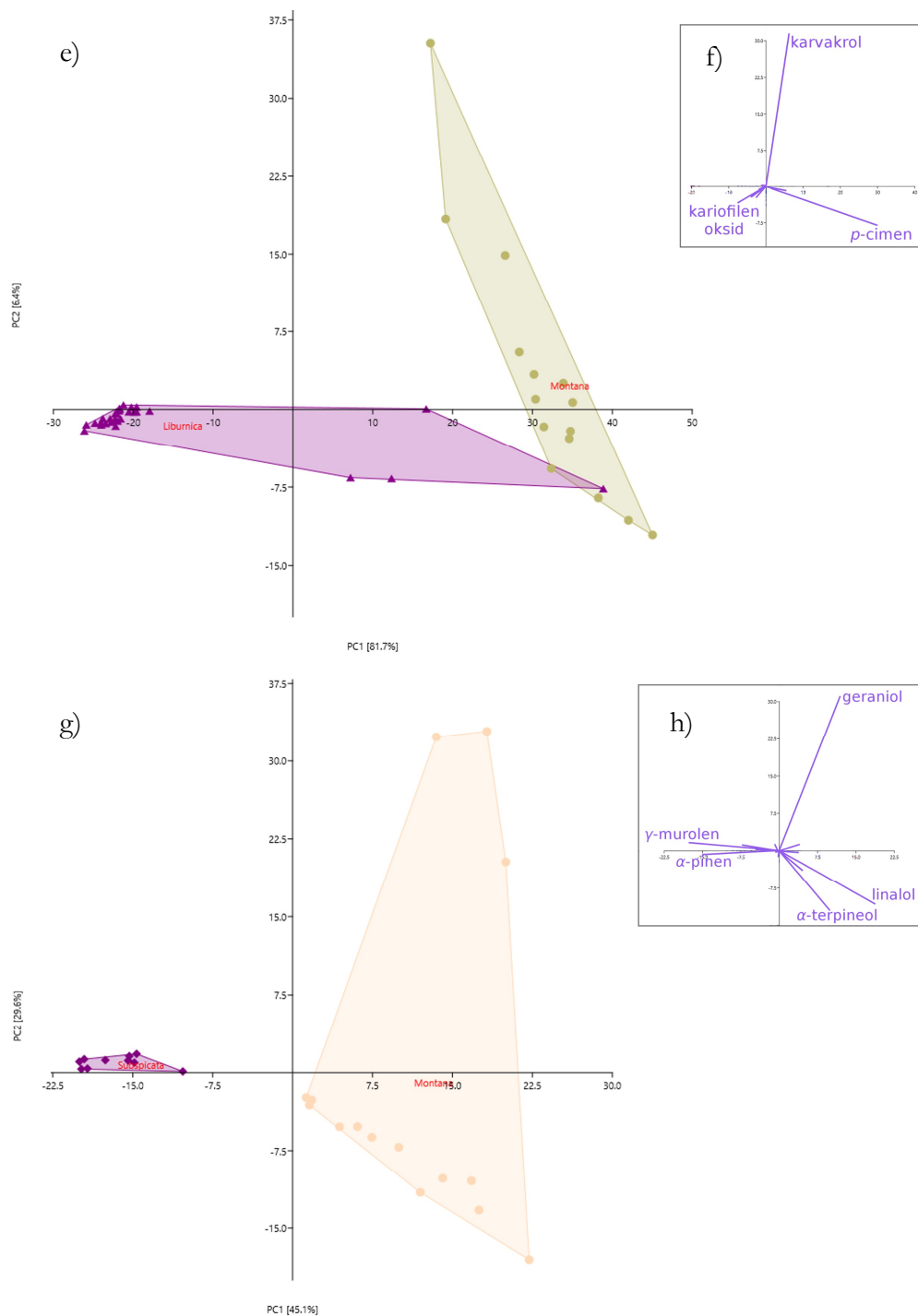
cimena, karvakrola i kariofilen oksida (Slika 4.4.4.3 pod a i c). Prethodne analize varijabilnosti etarskog ulja vrste *S. montana* su pokazale postojanje dva hemotipa na ovom lokalitetu (karvakrolski i zastupljeniji *p*-cimenski). Varijabilnost sastava etarskog ulja kod svakog taksona je bila gotovo podjednaka. Kod populacije Jadranovo, prve dve ose objašnjavaju oko 82 % ukupne varijabilnosti, pokazana je velika varijabilnost u sastavu etarskog ulja kod vrste *S. montana* (prethodne analize su pokazale postojanje čak tri hemotipa na ovom lokalitetu, timolski, *p*-cimenski i karvakrolski) (Slika 4.4.4.3 pod b i d). Odvajanje između dva taksona je na osnovu ove tri komponente sa jedne i *a*-pinena sa druge strane. U populacijama na lokalitetu Zlobin (prve dve ose objašnjavaju oko 88 % ukupne varijabilnosti) kao i na prethodnoj analizi nekoliko jedinki vrste *S. subspicata* se jako približava jedinkama druge vrste, pa dolazi do malog preklapanja (Slika 4.4.4.3 pod e i g). U populaciji *S. montana* na ovom lokalitetu su prisutna dva hemotipa (karvakrolski i *p*-cimenski) dominira *p*-cimenski. Simpatrijska populacija *S. montana* na lokalitetu Gacko (prve dve ose objašnjavaju oko 75 % ukupne varijabilnosti) pokazuje mnogo veću varijabilnost nego druga vrsta, iako su prethodne analize otkrile samo jedan hemotip (linalolski), ali bi se za tri jedinke ove populacije moglo reći da poseduju 5 hemotip bogat geraniolom. Razlike kod vrste *S. subspicata* na ovom lokalitetu su na nivou varijabilnosti pojedinih komponenti (Slika 4.4.4.3 pod f i h).

Tabela 4.4.4.2. Udeo 25 terpena u prva tri vektora analize glavnih komponenti

	Divača			Jadranovo			Zlobin			Gacko		
	PC 1	PC 2	PC 3	PC 1	PC 2	PC 3	PC 1	PC 2	PC 3	PC 1	PC 2	PC 3
<i>α</i> -Pinen	-0.13	-0.04	-0.25	-0.25	-0.18	-0.10	-0.12	-0.07	-0.27	-0.42	-0.03	-0.05
1-Okten-3-ol	0.02	-0.01	0.01	0.02	0.02	-0.01	-	-	-	-	-	-
Mircen	-	-	-	-0.02	-0.01	0.00	-0.01	-0.01	-0.03	0.02	-0.01	-0.10
<i>p</i> -Cimen	0.45	-0.64	0.53	0.47	0.57	-0.58	0.92	-0.24	0.15	-	-	-
Limonen	-0.05	-0.08	-0.16	-0.08	-0.04	-0.01	-0.08	-0.07	-0.13	-	-	-
1,8-Cineol	-	-	-	-0.05	-0.03	-0.02	-0.05	-0.02	-0.11	-	-	-
<i>trans</i> - β -Ocimen	-	-	-	-0.11	-0.07	-0.01	-0.07	-0.04	-0.13	-	-	-
γ -Terpinen	-	-	-	-	-	-	0.01	-0.04	-0.08	0.00	-0.01	-0.04
Linalol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.54	-0.29	0.14
Kamfor	-0.04	0.00	-0.03	-0.03	-0.02	-0.01	-0.04	-0.02	-0.08	0.04	-0.03	-0.12
Borneol	-	-	-	-0.13	-0.06	-0.12	-	-	-	0.13	-0.11	-0.33
Terpinen-4-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04	-0.05	-0.19
<i>α</i> -Terpineol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.29	-0.34	0.68
Karvakrol metil etar	-	-	-	0.06	0.11	-0.15	0.17	-0.03	0.03	-	-	-
Geraniol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.33	0.88	0.21
Bornil acetat	-	-	-	-0.04	-0.02	-0.01	-0.02	-0.01	-0.04	-	-	-
Timol	-	-	-	0.04	0.62	0.73	-	-	-	-	-	-
Karvakrol	0.74	0.63	0.01	0.80	-0.47	0.27	0.18	0.95	0.10	-	-	-
β -Bourbonen	-0.02	-0.01	-0.03	-	-	-	-0.03	-0.02	-0.05	-0.03	0.04	0.08
b-Element	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.13	0.01	0.12
(<i>E</i>)-Kariofilen	-0.08	-0.05	-0.32	-	-	-	-0.11	-0.06	0.16	-0.21	0.03	0.17
γ -Murolen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.50	0.04	0.48
Germakren D	-	-	-	-0.16	-0.10	0.04	-	-	-	0.12	-0.01	-0.12
Spatulenol	-0.09	0.01	-0.14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kariofilen oksid	-0.46	0.42	0.71	-	-	-	-0.23	-0.10	0.90	-	-	-



Slika 4.4.4.3. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) simetrijskih populacija
 a) Divača: ▲ *S. subspicata* i ▼ *S. montana*; c) Jadranovo: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*;
 b), d) glavne komponente;



Slika 4.4.4.3. (nastavak) Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) simetrijskih populacija

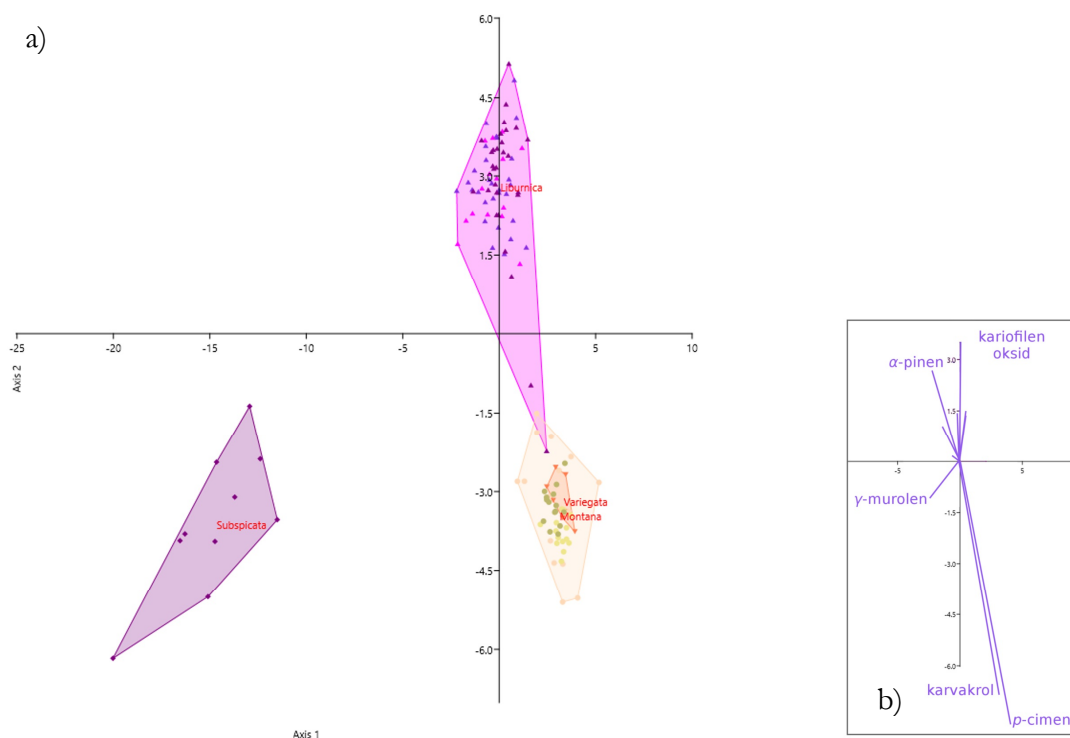
e) Zlobin: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*; g) Gacko: ◆ *S. subspicata* i ● *S. montana*; f), h) glavne komponente;

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava 66,3 %, dok druga objašnjava 32,5% ukupne varijabilnosti kada su u pitanju taksoni kao grupe. Analiza je pokazala jako odvajanje između podvrsta *S. subspicata* ssp. *liburnica* i ssp. *subspicata*, kao i odvajanje od podvrsta *S. montana* (ssp. *variegata* i ssp. *montana*) na drugu stranu (Slika 4.4.4.4). Takođe, i ovde je pokazano grupisanje dve jedinke *S. subspicata* ssp. *liburnica* iz Zlobina sa jedinkama vrste *S. montana*. Matrica konfuzije smešta u grupu *S. montana* ssp. *variegata* svega 2 od 73 jedinke *S. subspicata* ssp. *liburnica* i čak 11 od 44 jedinki *S. montana* ssp. *montana*, ostale jedinke su u svojim grupama (Tabela 4.4.4.3).

Tabela 4.4.4.3. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, taksoni su grupe.

	<i>variegata</i>	<i>liburnica</i>	<i>montana</i>	<i>subspicata</i>	Σ
<i>variegata</i>	7	0	0	0	7
<i>liburnica</i>	0	71	2	0	73
<i>montana</i>	11	0	33	0	44
<i>subspicata</i>	0	0	0	10	10
Σ	18	71	35	10	134



Slika 4.4.4.4. Scatter plot diskriminatne analize svih simpatrijskih taksona

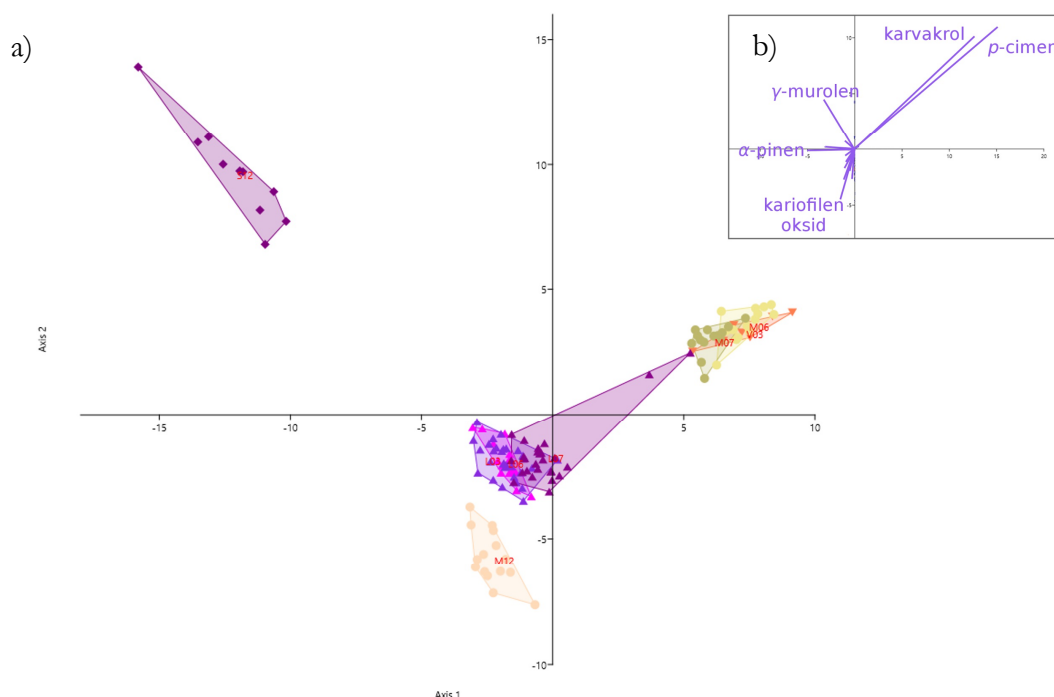
a) *S. montana* i *S. subspicata*; b) glavne komponente; Divača: ▲ *S. subspicata* i ▼ *S. montana*; Jadranovo: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*; Zlobin: ▲ *S. subspicata* i ● *S. montana*; Gacko: ◆ *S. subspicata* i ● *S. montana*

DA sa populacijama kao grupama je pokazala odvajanje individua dva taksona iz simpatrijskih populacija (Slika 4.4.4.5). Najviše su se odvojile populacije sa lokaliteta Gacko (S12 i M12). Dve jedinke *S. subspicata* ssp. *liburnica* grupišu se blisko sa *S. montana* ssp. *montana* na lokalitetu Zlobin, zbog većeg udela *p*-cimen. Dok se ostale simpatrijske populacije odvajaju prema pripadnosti taksonu, uz grupisanje populacija istog taksona. Matrica konfuzije (Tabela 4.4.4.4) pokazuje da ne postoji mešanje taksona na lokalitetima, iako izuzetno velika varijabilnost u sastavu etarskog ulja kod ispitivanih taksona utiče na izmeštanje pojedinih jedinki u druge grupe (druge populacije).

Tabela 4.4.4.4. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu (CDA), populacije su grupe.

		Divača		Gacko		Jadranovo		Zlobin		Σ
		<i>montana</i>	<i>subspicata</i>	<i>montana</i>	<i>subspicata</i>	<i>montana</i>	<i>subspicata</i>	<i>montana</i>	<i>subspicata</i>	
I	<i>montana</i>	7	0	0	0	0	0	0	0	7
	<i>subspicata</i>	0	14	0	0	0	0	0	1	15
II	<i>montana</i>	0	0	15	0	0	0	0	0	15
	<i>subspicata</i>	0	0	0	10	0	0	0	0	10
III	<i>montana</i>	5	0	0	0	8	0	1	0	14
	<i>subspicata</i>	0	0	0	0	0	29	0	0	29
IV	<i>montana</i>	2	0	0	0	0	0	13	0	15
	<i>subspicata</i>	0	2	0	0	0	2	2	23	29
Σ		14	16	15	10	8	31	16	24	134

I-Divača; II-Gacko; III-Jadranovo; IV-Zlobin;

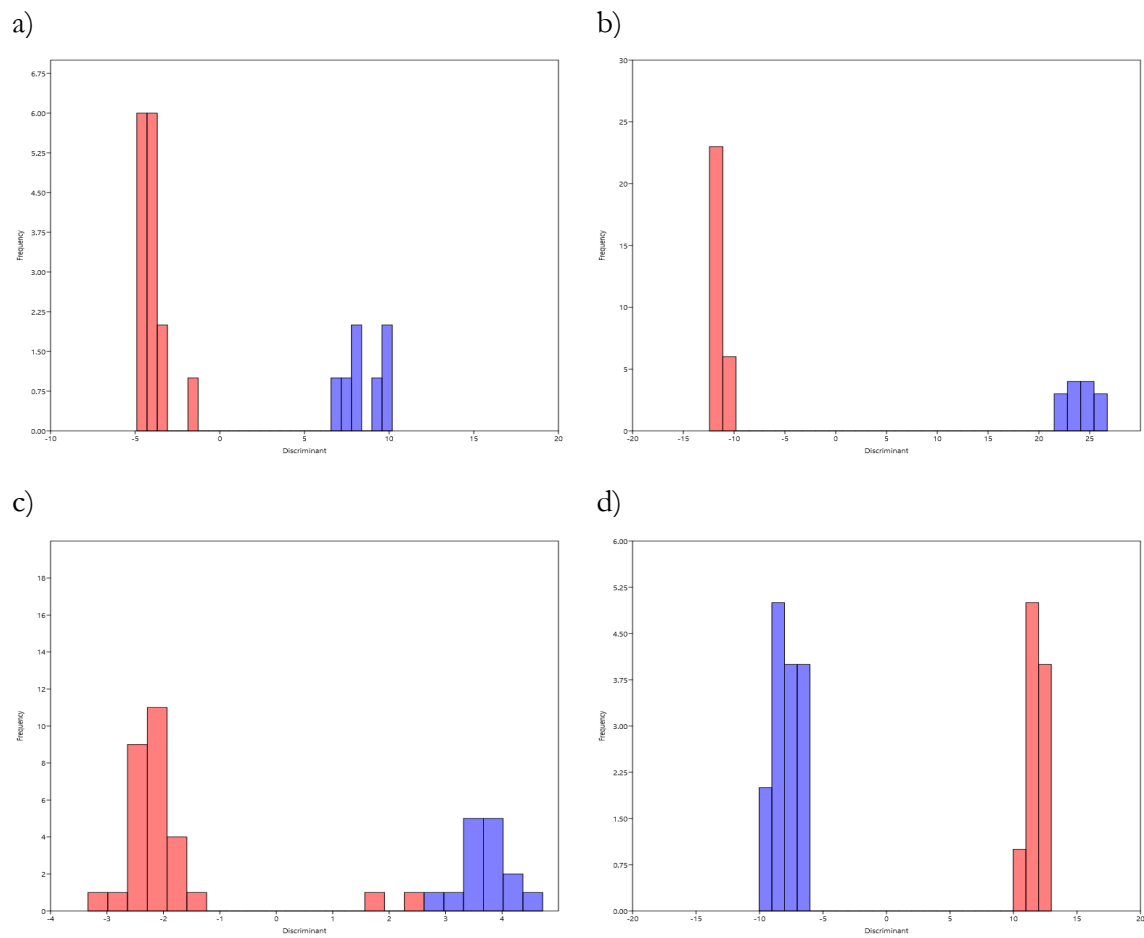


Slika 4.4.4.5. Scatter plot diskriminativne analize svih simpatrijskih populacija

a) populacije; b) glavne komponente

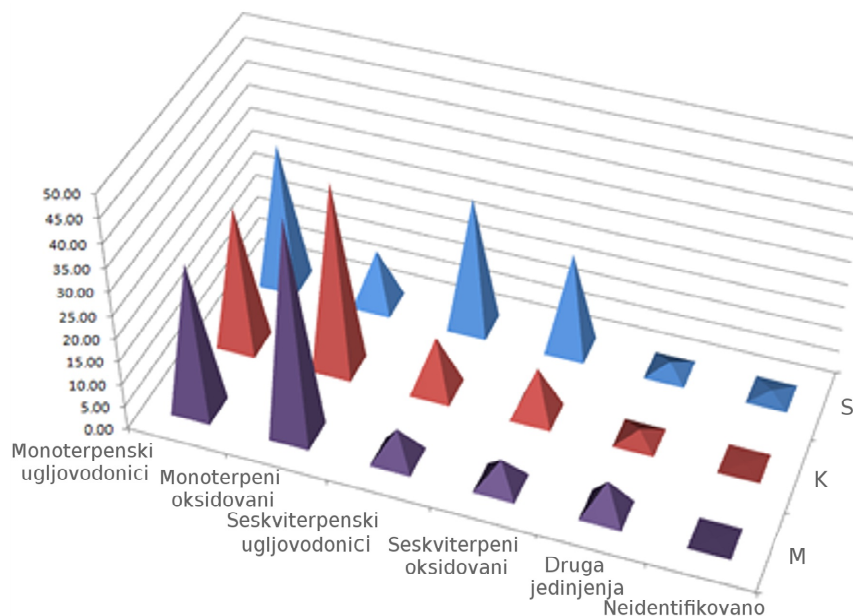
Divača: \blacktriangle *S. subspicata* i \blacktriangledown *S. montana*; Jadranovo: \blacktriangle *S. subspicata* i \bullet *S. montana*; Zlobin: \blacktriangle *S. subspicata* i \bullet *S. montana*; Gacko: \blacklozenge *S. subspicata* i \circ *S. montana*

Diskriminativna analiza sa pojedinačnim lokalitetima kao grupama i odabranim statistički značajnim komponentama etarskog ulja je pokazala odvajanje između taksona. Ponovo na lokalitetu Zlobin 2 jedinke *S. subspicata* ssp. *liburnica* se blisko grupišu sa *S. montana* ssp. *variegata*. Za ovu DA izabrane su komponente koje su pokazale statistički značajnu razliku između taksona prema *post-hoc* testu (Tabela 4.4.4.1). Taksoni na lokalitetu Jadranovo se jasno odvajaju na osnovu 14 komponenti. Simpatrijske populacije na lokalitetu Gacko se jasno odvajaju na osnovu istog broja komponenti kao i kod prethodnog lokaliteta, pri čemu su najveće pozitivne vrednosti su za α -pinen i γ -murolen, dok su negativne linalol i geraniol. Jedino se taksoni na lokalitetu Divača razlikuju u najmanjem broju komponenti svega 10. Najveće pozitivne komponente su *p*-cimen i karvakrol a negativne kariofilen oksid i α -pinen na lokalitetima Divača, Zlobin i Jadranovo, pri čemu na lokalitetu Jadranovo je negativna vrednost za komponentu germakren D umesto kariofilen oksida (Slika 4.4.4.6).

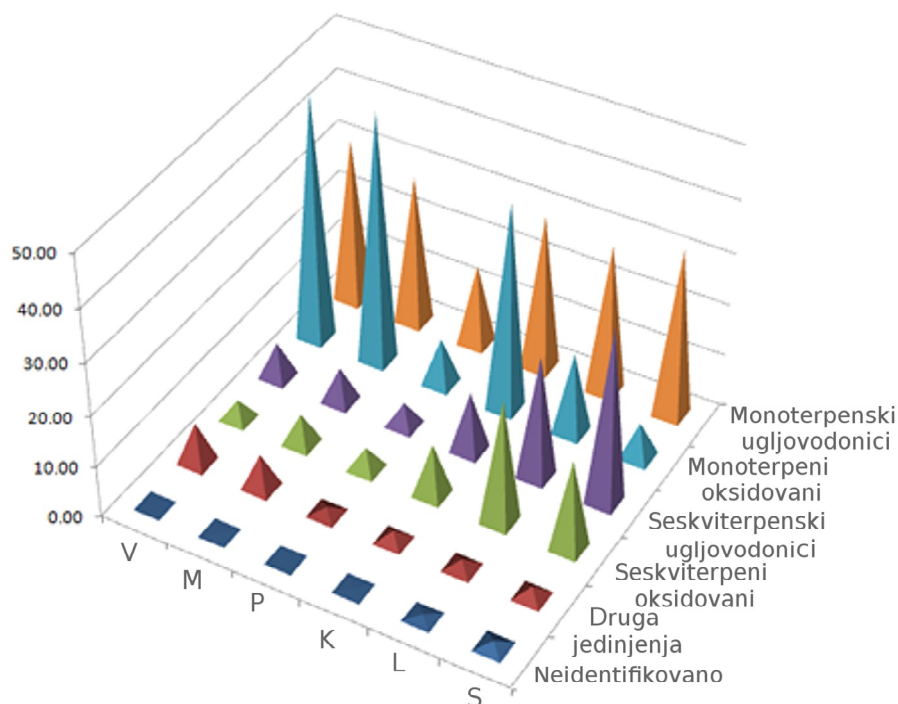


Slika 4.4.4.6. Histogram diskriminantne analize svih parova simpatrijskih populacija, *S. montana* i *S. subspicata*; a) Divača, 10 komponenti; b) Jadranovo, 14 komponenti; c) Zlobin, 14 komponenti; d) Gacko, 14 komponenti;

4.4.5. Diferencijacija proučavanih taksona na osnovu etarskog ulja



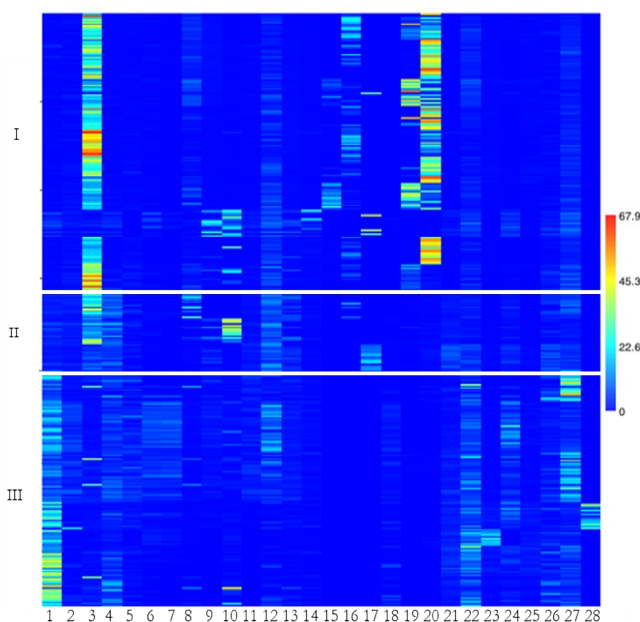
Slika 4.4.5.1. Zastupljenost glavnih grupa jedinjenja u sastavu etarskih ulja sve tri podvrste *M-Satureja montana*; *K-S. kitaibelii*; *S-S. subspicata*



Slika 4.4.5.2. Zastupljenost glavnih grupa jedinjenja u sastavu etarskih ulja svih taksona *V-Satureja montana* ssp. *variegata*; *M-S. montana* ssp. *montana*; *P-S. montana* ssp. *pisidica*; *K-S. kitaibelii*; *L-S. subspicata* ssp. *liburnica*; *S-S. subspicata* ssp. *subspicata*

Univarijantne analize

Matriks plot jasno pokazuje razliku između vrste *S. subspicata* i druge dve vrste po većem broju dominantnih komponenti sa manjim udelom u sastavu etarskog ulja (Slika 4.4.5.3). Kod vrste *S. montana* postoje dve komponente sa većim udelom dok je kod *S. kitaibelii* dominantna jedna komponenta.



Slika 4.4.5.3. Matriks plot sve tri vrste

I-*S. montana*; II-*S. kitaibelii*; III-*S. subspicata*;

1- α -Pinen; 2- Kamfen; 3- p -Cimen; 4- Limonen; 5-1,8-Cineol; 6- cis - β -Ocimen; 7- $trans$ - β -Ocimen; 8- γ -Terpinen; 9- cis -Sabinen hidrat; 10- Linalol; 11- Kamfor; 12- Borneol; 13- Terpinen-4-ol; 14- α -Terpineol; 15- Timol metil etar; 16- Karvakrol metil etar; 17- Geraniol; 18- Bornil acetat; 19- Timol; 20- Karvakrol; 21- β -Bourbonen; 22- (*E*)-Kariofilen; 23- γ -Murolen; 24- Germakren D; 25- δ -Kadinen; 26- Spatulanol; 27- Kariofilen oksid; 28- Viridiflorol;

Analiza varijanse (ANOVA) je urađena sa sve tri vrste i 28 odabranih nekorelisanih komponenti je pronašla razlike na osnovu 26 komponenti (Tabela 4.4.5.1). Međutim, konzervativnija *post-hoc* analiza (Tukey's test, $P < 0,05$) je pokazala znatno manji broj komponenti, svega šest, na osnovu kojih se razlikuju vrste (p -cimen, limonen, 1,8-cineol, γ -terpinen, β -burbonen i germakren D). Pored pomenutih komponenti, dodatnih devet odvaja vrstu *S. subspicata* od druge dve. *S. montana* se od preostale dve razlikuje u šest komponenti. Najmanji broj komponenti diferencira *S. kitaibelii* od druge dve vrste, svega četiri. Treba takođe, uzeti u obzir da u svakoj vrsti postoji bar jedna populacija koja se po svom hemijskom sastavu razlikuje od ostalih, npr. populacija Đevrske, kod vrste *S. subspicata*.

Tabela 4.4.5.1. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 28 nekoreliranih komponenti etarskog ulja kod proučavanih vrsta roda *Satureja*

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>S. montana</i> n=156	<i>S. kitaibelii</i> n=44	<i>S. subspicata</i> n=133
<i>α</i> -Pinen	173.8	***	0.8±1.1 ^a	2.6±1.4 ^a	15.6±11.1
Kamfen	25.6	***	0.8±0.6	1.9±0.9 ^a	2.3±2.7 ^a
<i>p</i> -Cimen	136.6	***	25.4±15.6	14.6±10.6	2.8±7.9
Limonen	129.9	***	0.6±0.8	6.8±3.8	4.5±3.5
1,8-Cineol	47.8	***	0.5±0.5	1.2±1.2	2.0±1.9
<i>cis</i> -β-Ocimen	48.8	***	0.5±1.1 ^a	0.3±0.3 ^a	2.4±2.5
<i>trans</i> -β-Ocimen	61.7	***	0.1±0.3 ^a	0.2±0.3 ^a	2.3±2.7
γ-Terpinen	17.1	***	2.2±2.2	3.4±6.7	0.6±1.8
<i>cis</i> -Sabinen hidrat	2.1	-	1.4±3.8 ^a	1.5±2.8 ^a	0.8±0.9 ^a
Linalol	13.3	***	2.1±6.0 ^a	7.7±13.8	1.5±4.4 ^a
Kamfor	24.3	***	0.4±0.6	1.3±0.7 ^a	1.2±1.4 ^a
Borneol	24.8	***	3.5±2.5 ^a	7.7±3.0	3.8±4.6 ^a
Terpinen-4-ol	47.8	***	0.8±1.1 ^a	3.2±2.6	1.2±1.1 ^a
<i>α</i> -Terpineol	0.9	-	0.9±3.4 ^a	0.5±0.3 ^a	0.6±0.5 ^a
Timol metil etar	13.7	***	1.6±4.1	– ^a	– ^a
Karvakrol metil etar	34.6	***	4.0±5.9	0.8±2.6 ^a	0.1±1 ^a
Geraniol	12.4	***	0.9±5.5 ^a	3.8±6.2	– ^a
Bornil acetat	75.4	***	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	1.2±1.3
Timol	26.3	***	7.4±13.4	0.2±0.5 ^a	0.0±0.1 ^a
Karvakrol	110.9	***	22.0±19.3	0.6±0.4 ^a	0.2±0.9 ^a
β-Bourbonen	126.7	***	0.3±0.5	3.1±2.3	1.9±1.3
(<i>E</i>)-Kariofilen	74.7	***	2.4±1.7 ^a	2.5±1.8 ^a	7.5±5.5
γ-Murolen	13.0	***	0.3±0.2 ^a	0.2±0.2 ^a	1.8±4.2
Germakren D	45.9	***	0.5±1.2	1.8±1.3	3.8±4.3
δ-Kadinen	50.6	***	0.3±0.3 ^a	0.3±0.2 ^a	0.9±0.8
Spatulenol	37.9	***	0.8±1.0	3.3±2.5 ^a	2.8±3.1 ^a
Kariofilen oksid	26.0	***	3.3±2.0 ^a	3.7±2.3 ^a	8.2±9.2
Viridiflorol	8.2	***	– ^a	– ^a	1.7±6.0

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^a grupa je prema *post-hoc* testu ($P < 0,05$); Udeli terpena su dati kao srednja vrednost ± SD; masnim slovima napisane su vrednosti koje doprinose razdvajanju
*** $P < 0,01$

ANOVA, sa podvrstama kao grupama, je pokazala statistički značajnu diferencijaciju na osnovu svih 28 odabranih komponenti (Tabela 4.4.5.2). *Post-hoc* test nije potvrdio odvajanje parova podvrsta na osnovu dve komponente (*cis*-sabinen hidrat i *α*-terpineol), dok su se ostale komponente pokazale kao dobre za odvajanje *S. subspicata* od druge dve vrste, kao i za odvajanje *S. kitaibelii* od drugih taksona, neke su se pokazale kao dobre za odvajanje podvrsta unutar vrste. Najslabije se razlikuju podvrste *montana* i *variegata*, dok se bolje odvajaju ssp. *pisidica* i *S. kitaibelii*. Podvrste *S. subspicata* se najviše razlikuju međusobno ali i od svih ostalih taksona.

Tabela 4.4.5.2. Rezultati analize varijanse i *post-hoc* test 28 nekoreliranih komponenti etarskog ulja kod svih proučavanih taksona roda *Satureja*

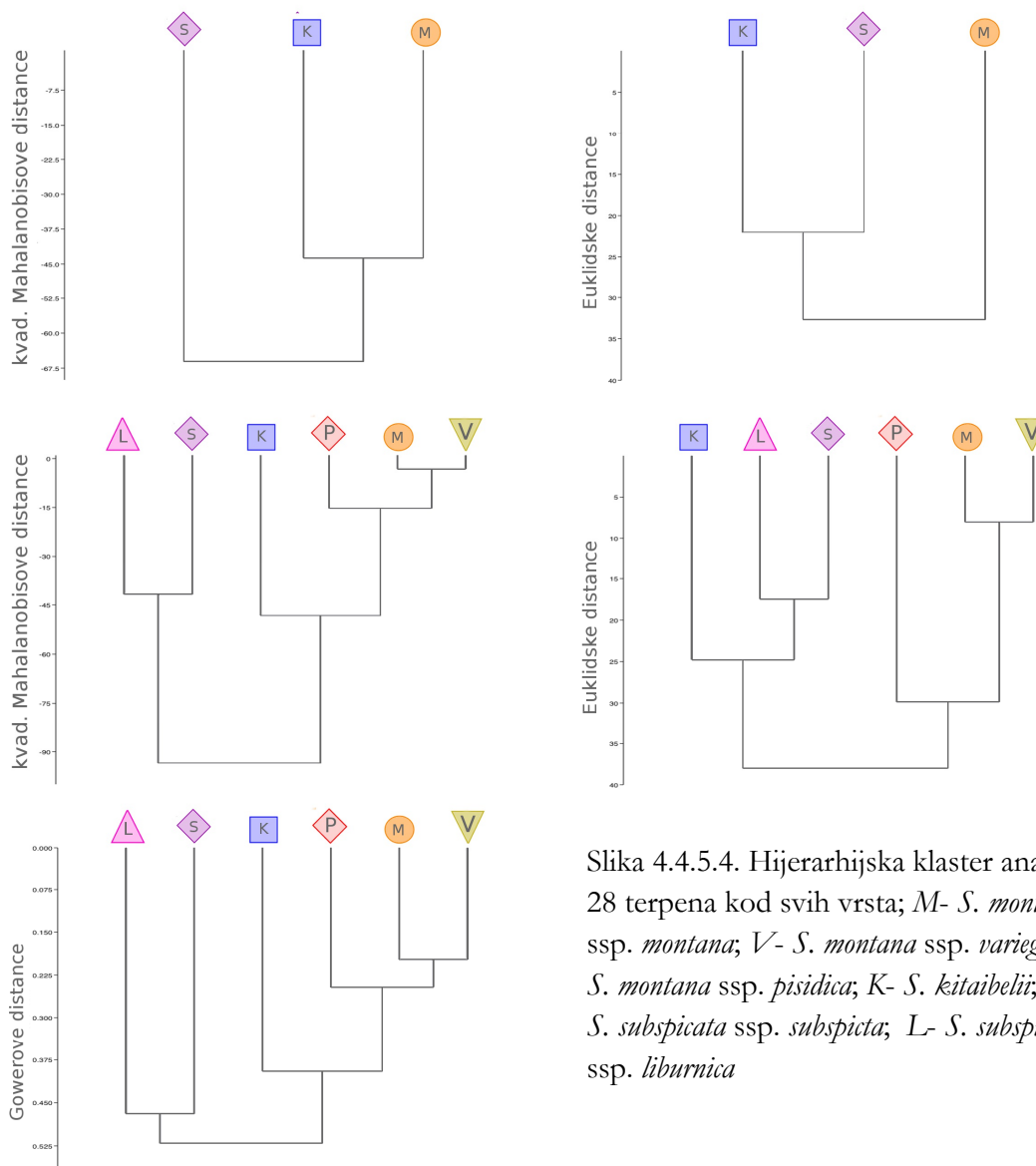
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>variegata</i> n=52	<i>montana</i> n=89	<i>pisidica</i> n=15	<i>S.kitaibeli</i> n=44	<i>liburnica</i> n=89	<i>subspicata</i> n=44
<i>α</i> -Pinen	129.0	***	0.6±0.6 ^a	0.9±1.4 ^a	0.6±0.2 ^a	2.6±1.4 ^a	11.2±7.3	24.4±12.1
Kamfen	22.9	***	0.6±0.5 ^{ab}	0.9±0.5 ^{abc}	1.4±1.1 ^{abc}	1.9±0.9 ^{bc}	3.0±2.9	0.9±1.0 ^{abc}
<i>p</i> -Cimen	67.4	***	24.1±12.0 ^a	23.3±16.6 ^a	42±10.3	14.6±10.6	3.3±9.1	1.9±4.9 ^b
Limonen	53.3	***	0.4±0.1 ^a	0.7±0.9 ^a	1.2±1.0 ^a	6.8±3.8 ^{bd}	4.1±2.8 ^{cd}	5.2±4.5 ^{bcd}
1,8-Cineol	41.5	***	0.3±0.2 ^{abc}	0.4±0.4 ^{abde}	1.3±1.0 ^{cde}	1.2±1.2 ^{bcde}	2.6±2.0	0.7±0.8 ^{abcde}
<i>cis</i> -β-Ocimen	38.4	***	0.3±0.3 ^a	0.6±1.4 ^a	0.4±0.4 ^a	0.3±0.3 ^a	3.2±2.7	0.7±0.8 ^a
<i>trans</i> -β-Ocimen	55.5	***	0.1±0.1 ^a	0.1±0.3 ^a	0.1±0.2 ^a	0.2±0.3 ^a	3.2±2.9	0.3±0.5 ^a
γ-Terpinen	11.7	***	3.7±2.0 ^{acd}	1.3±1.8 ^{bce}	2.5±1.8 ^{abcd}	3.4±6.7 ^{acd}	0.7±1.9 ^{bcde}	0.4±1.6 ^{be}
<i>cis</i> -Sabinen hidrat	2.3	**	0.9±0.3 ^a	1.7±5.0 ^a	1.2±1.7 ^a	1.5±2.8 ^a	1.1±0.9 ^a	0.0±0.1 ^a
Linalol	6.9	***	0.1±0.1 ^{ab}	3.0±7.2 ^{ab}	3.9±6.7 ^{abc}	7.7±13.8 ^{bc}	1.0±1.5 ^{ab}	2.5±7.4 ^{ab}
Kamfor	37.7	***	0.3±0.2 ^{abd}	0.5±0.7 ^{abd}	0.7±0.5 ^{ab}	1.3±0.7 ^c	1.7±1.4 ^c	— ^{ad}
Borneol	22.5	***	2.5±1.6 ^{abd}	3.9±2.4 ^{abc}	5.1±4.1 ^{bc}	7.7±3.0	5.1±5.0 ^{bc}	1.1±1.6 ^{ad}
Terpinen-4-ol	24.3	***	0.5±0.1 ^{ab}	1.0±1.4 ^{abc}	1.0±1.5 ^{abc}	3.2±2.6	1.6±0.9 ^{bc}	0.6±1.1 ^{ab}
<i>α</i> -Terpineol	2.4	**	0.2±0.1 ^a	1.4±4.5 ^a	0.6±0.3 ^a	0.5±0.3 ^a	0.7±0.5 ^a	0.3±0.4 ^a
Timol metil etar	7.6	***	1.1±2.4 ^{abc}	2.2±5.0 ^{ab}	0.1±0.1 ^{ac}	— ^{ac}	— ^{ac}	— ^{ac}
Karvakrol metil etar	16.1	***	5.3±7.4 ^{ab}	3.5±5.1 ^{abc}	2.0±2.8 ^{bcd}	0.8±2.6 ^{cd}	0.2±1.2 ^{cd}	— ^{cd}
Geraniol	5.2	***	0.6±4.2 ^{ab}	1.2±6.5 ^{abc}	— ^{ab}	3.8±6.2 ^{bc}	— ^{ab}	0.0±0.1 ^{ab}
Bornil acetat	30.1	***	— ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	1.2±1.1 ^b	1.1±1.6 ^b
Timol	13.6	***	11.2±16.5 ^{ab}	5.4±11.9 ^{abc}	6.5±4.1 ^{ab}	0.2±0.5 ^{bc}	0.1±0.2 ^{bc}	— ^{bc}
Karvakrol	58.7	***	25.4±17.6 ^a	23.4±19.9 ^a	1.9±3.7 ^b	0.6±0.4 ^b	0.2±1.0 ^b	0.1±0.3 ^b
β-Bourbonen	57.7	***	0.1±0.1 ^a	0.4±0.6 ^a	0.2±0.1 ^a	3.1±2.3 ^b	1.6±1.1	2.6±1.3 ^b
(<i>E</i>)-Kariofilen	39.4	***	3.1±1.5 ^a	2.0±1.7 ^a	2.7±1.6 ^a	2.5±1.8 ^a	6.2±4.8	10.0±6.1
γ-Murolen	20.5	***	0.3±0.2 ^a	0.3±0.2 ^a	0.1±0.1 ^a	0.2±0.2 ^a	0.5±0.5 ^a	4.3±6.7
Germakren D	28.7	***	0.2±0.3 ^a	0.7±1.6 ^a	0.4±0.3 ^a	1.8±1.3 ^a	4.8±4.9	1.7±1.7 ^a
δ-Kadinen	35.7	***	0.4±0.2 ^{abc}	0.3±0.3 ^{ab}	0.2±0.2 ^{ab}	0.3±0.2 ^{ab}	0.7±0.6 ^{ac}	1.4±0.8
Spatulenol	17.9	***	0.5±0.4 ^{ab}	0.8±1.0 ^{abc}	2.0±1.3 ^{bcd}	3.3±2.5 ^{cde}	2.4±3.0 ^{cde}	3.5±3.1 ^{de}
Kariofilen oksid	18.0	***	2.4±1.2 ^a	3.3±2.0 ^a	5.6±2.5 ^a	3.7±2.3 ^a	10.2±10.7	4.4±2.6 ^a
Viridiflorol	6.2	***	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	2.5±7.2	— ^a

ANOVA i *post-hoc* test (Tukey's), ^{a,b,c,d,e} grupe su prema *post-hoc* testu ($P<0,05$); Udeli terpena su dati kao srednja vrednost ± SD; *** $P<0,01$; ** $0,01<P<0,05$

Hijerarhijska klaster analiza (HCA)

Dendrogram dobijen HCA, baziranom na prosečnom udelu svih 28 odabranih komponenti etarskog ulja i sa kvadriranim Mahalanobisovim, Gowerovim i Euklidskim distancama pokazuje rezultate slične onima koje je dala ANOVA (Slika 4.4.5.4). Kvadrirane Mahalanobisove i Gowerove distance pokazuju da se odvaja vrsta *S. subspicata* u jednu kladu a u drugoj su *S. kitaibeli* i *S. montana*. Isto se dešava kada se analiza radi sa svih 6 specijskih i infraspecijskih taksona, dve podvrste *S. subspicata* su u jednoj kladi a u drugoj su na jednoj strani *S. kitaibeli*, pa njoj je sličnija *S. montana* ssp. *pisidica*, a njima su slične ssp.

montana i ssp. *variegata*. Euklidske distance odvajaju *S. montana* kao najrazličitiju a grupišu *S. kitaibelii* sa *S. subspicata*, isto grupisanje se dobije i kada se koriste svih šest taksona.



Slika 4.4.5.4. Hijerarhijska klaster analiza 28 terpena kod svih vrsta; M- *S. montana* ssp. *montana*; V- *S. montana* ssp. *variegata*; P- *S. montana* ssp. *pisidica*; K- *S. kitaibelii*; S- *S. subspicata* ssp. *subspicata*; L- *S. subspicata* ssp. *liburnica*

Analiza glavnih komponenti (PCA)

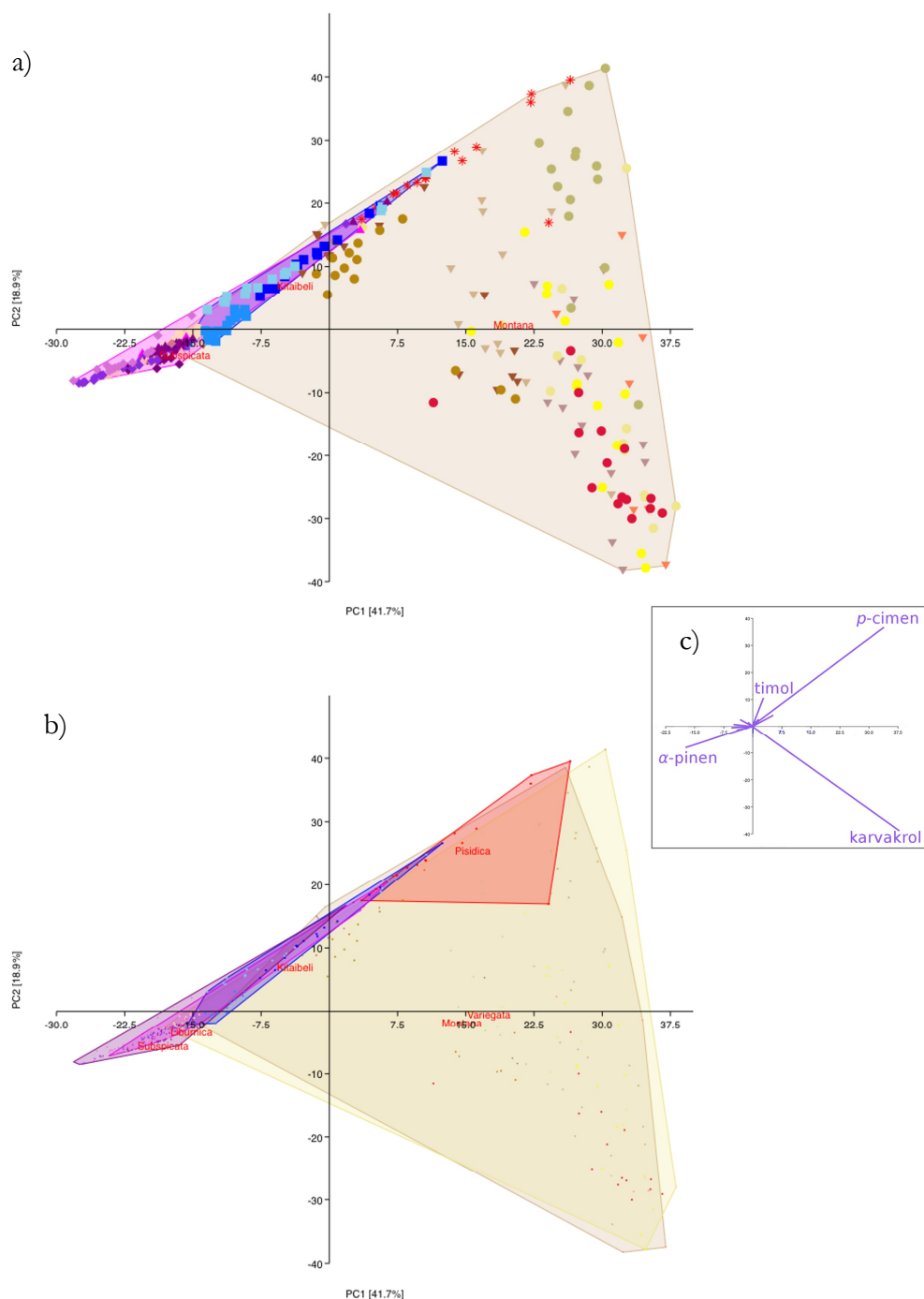
Analiza glavnih komponenti kod 333 individe je pronašla 3 komponente etarskih ulja koje bitno utiču na diferencijaciju individua (Tabela 4.4.5.3). Prve dve ose ove analize objašnjavaju oko 61 % ukupne varijabilnosti (Slika 4.4.5.5). Komponente koje ih diferenciraju su *p*-cimen, karvakrol i *α*-pinen, na prve dve ose a na trećoj je timol. Scatter

plot pokazuje veliku varijabilnost vrste *S. montana* koja se ogleda u smeni dominacije nekoliko komponenti, dok kod *S. kitaibelii* varira mnogo manji broj komponenti. *S. subspicata* varira uglavnom na jednoj osi po udelu α -pinena i (*E*)-kariofilena. Populacije vrste *S. montana* Gacko i Makarska odskaču od ostalih populacije te vrste, Gacko se skoro potpuno pomešao sa jedinkama *S. subspicata*, ali se od njih odvaja po trećoj osi. Transformisani podaci ($\log(x+1)$) pokazuju veliku varijabilnost u sastavu etarskog ulja kod svakog od 6 taksona. Opet dolazi do preklapanja na prve dve ose (Tabela 4.4.5.3). Najveću varijabilnost pokazuje *S. montana* ssp. *montana*, a potom podvrste *S. subspicata*. Nešto veća varijabilnost se uočava kod ssp. *liburnica* u odnosu na tipsku podvrstu *S. subspicata* (Slika 4.4.5.6).

Tabela 4.4.5.3. Udeo 28 terpena u prva tri vektora analize glavnih komponenti

	netransformisani podaci			transformisani podaci		
	PC 1	PC 2	PC 3	PC 1	PC 2	PC 3
α-Pinen	-0.31	-0.15	-0.29	0.29	-0.07	0.02
Kamfen	-0.03	0.00	-0.02	0.11	0.29	-0.11
<i>p</i>-Cimen	0.61	0.66	-0.30	-0.24	0.21	-0.17
Limonen	-0.09	0.01	-0.08	0.25	0.09	-0.13
1,8-Cineol	-0.02	0.00	-0.02	0.12	0.18	-0.01
<i>cis</i> - β -Ocimen	-0.04	-0.01	-0.01	0.20	0.20	0.40
<i>trans</i> - β -Ocimen	-0.04	-0.01	-0.01	0.22	0.22	0.37
γ -Terpinen	0.03	0.05	0.08	-0.18	0.28	0.21
<i>cis</i> -Sabinen hidrat	-0.02	0.00	0.01	0.04	0.32	0.08
Linalol	-0.06	0.04	-0.04	0.17	0.05	0.01
Kamfor	-0.02	0.00	-0.01	0.11	0.31	-0.22
Borneol	-0.02	0.03	-0.01	-0.02	0.39	-0.17
Terpinen-4-ol	-0.02	0.01	-0.01	0.07	0.29	-0.15
α -Terpineol	-0.02	0.00	0.00	0.09	0.16	-0.06
Timol metil etar	0.01	0.03	0.15	-0.13	0.08	0.22
Karvakrol metil etar	0.10	0.07	-0.03	-0.27	0.04	-0.03
Geraniol	-0.03	0.00	0.02	0.03	-0.01	-0.25
Bornil acetat	-0.02	-0.01	-0.01	0.18	0.07	0.12
Timol	0.05	0.20	0.88	-0.24	0.17	0.35
Karvakrol	0.68	-0.70	0.04	-0.44	0.06	-0.03
β -Bourbonen	-0.04	-0.01	-0.02	0.25	-0.14	-0.19
(<i>E</i>)-Kariofilen	-0.11	-0.06	0.00	0.12	-0.06	0.22
γ -Murolen	-0.03	-0.02	-0.01	0.05	-0.25	0.18
Germakren D	-0.08	-0.02	-0.03	0.31	0.11	0.08
δ -Kadinen	-0.01	-0.01	0.00	0.08	-0.18	0.23
Spatulenol	-0.05	0.00	-0.03	0.17	-0.07	-0.23
Kariofilen oksid	-0.10	-0.01	-0.04	0.05	0.01	-0.09
Viridiflorol	-0.03	-0.02	-0.02	0.04	-0.09	0.08

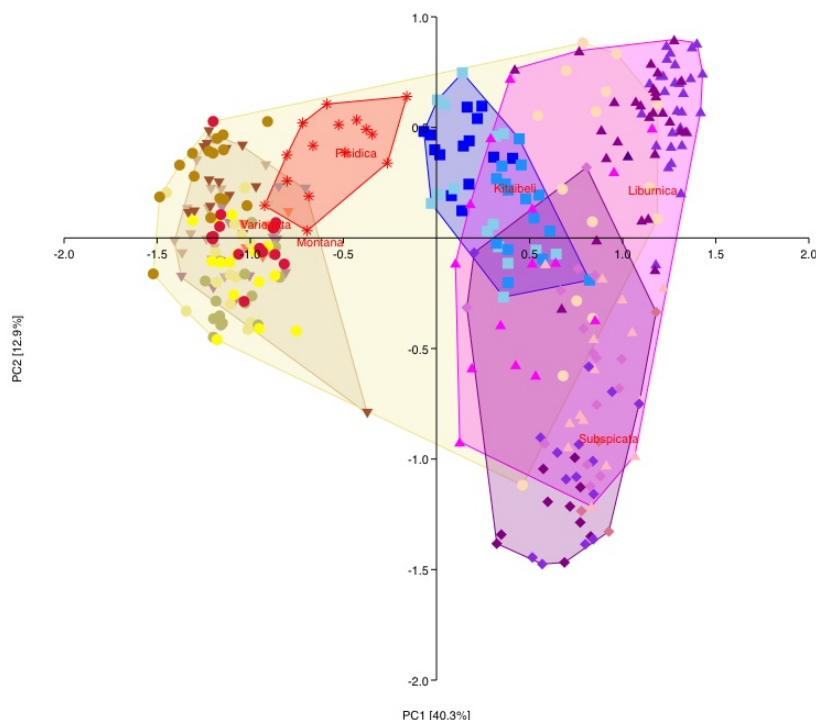
masnim svlovima napisane su vrednosti koje doprinose razdvajanju.



Slika 4.4.5.5. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) a) vrste

b) svi taksoni; c) glavne komponente;

S. montana: ssp. *variegata*: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrinc; ssp. *pisidica*: * Galičica
S. kitaibelii: ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; *S. subspicata*: ssp. *liburnica*: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ssp. *subspicata*: ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice

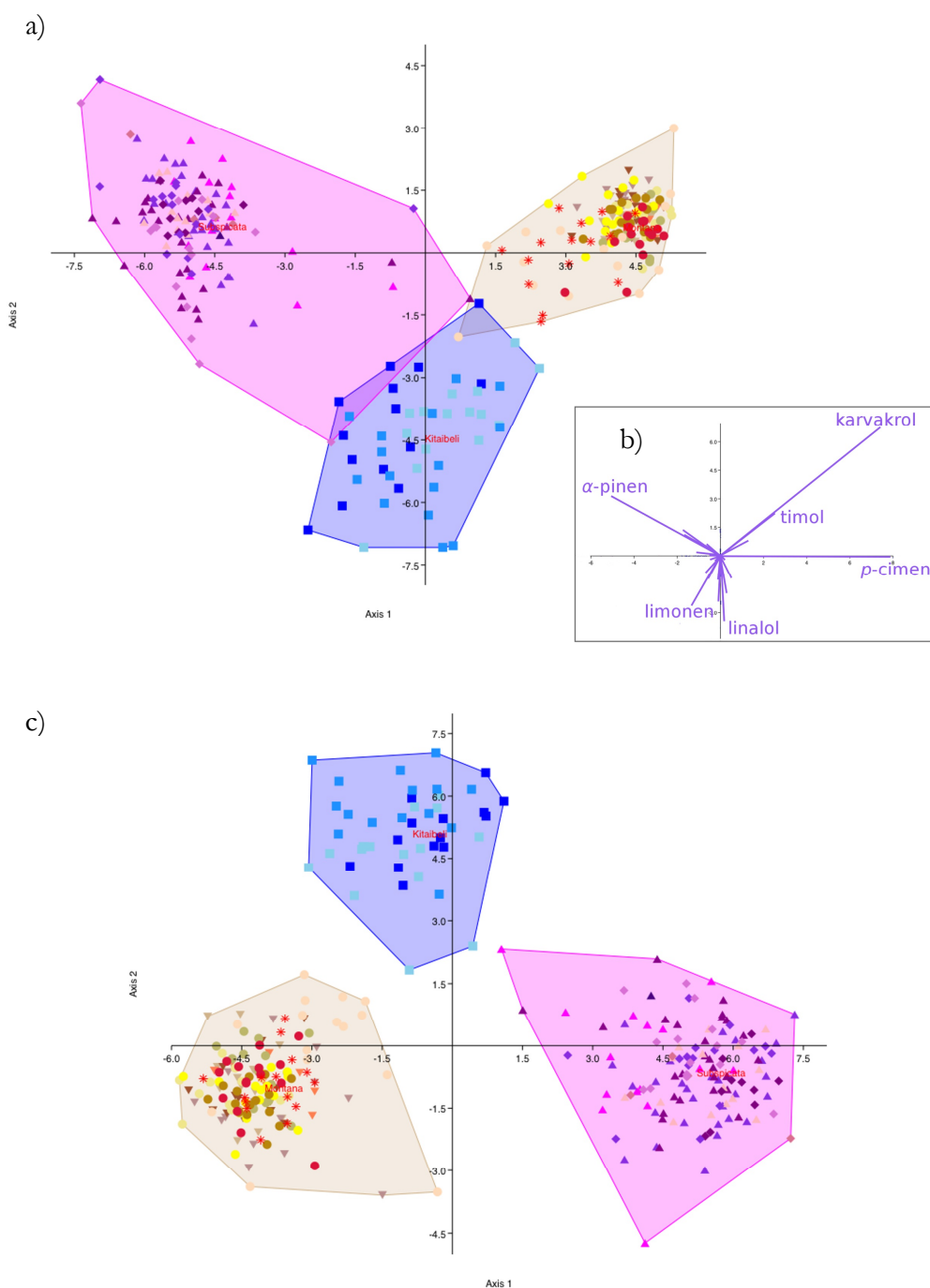


Slika 4.4.5.6. Scatter plot analize glavnih komponenti (PCA) sa transformisanim vrednostima

a) svi taksoni; *S. montana*: ssp. *variegata*: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibirj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; ssp. *pisidica*: * Galičica; *S. kitaibelii*: ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; *S. subspicata*: ssp. *liburnica*: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ssp. *subspicata*: ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice

Diskriminantna analiza (DA)

Urađeno je nekoliko diskriminantnih analiza. Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 86 %, dok druga objašnjava oko 14 % ukupne varijabilnosti kada su u pitanju vrste. Diskriminantna analiza pokazuje prilično jako odvajanje vrsta (Slika 4.4.5.7). Matrica konfuzije je smestila jednu od 155 jedinki *S. montana* i 4 od 126 jedinki *S. subspicata* u vrstu *S. kitaibelii*. Takođe, smestila je jednu jedinku vrste *S. subspicata* u vrstu *S. montana*. Međutim, pomenute jedinke nisu u prethodnim analizama odlazile u druge grupe. DA sa transformisanim podacima je još više odvojila sve tri vrste (prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 82 % a druga oko 18 % ukupne varijabilnosti). Matrica konfuzije pokazuje da sada samo jedna jedinka vrste *S. subspicata* prelazi u *S. kitaibelii*.



Slika 4.4.5.7 Scatter plot diskriminantne analize (DA)

a) vrste; b) transformisani podaci vrste; c) glavne komponente;

S. montana: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk; ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibirj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrine; * Galičica ***S. kitaibelii***: ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo; ***S. subspicata***: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske; ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice

Diskriminantna analiza sa 6 taksona je pokazala jasno odvajanje podvrsta vrste *S. subspicata* međusobno i od podvrsta vrste *S. montana*, dok se jedinke *S. kitaibelii* nalaze u

centru između ovih taksona i delimično ih preklapaju (Slika 4.4.5.8). Međutim, kod podvrsta *S. montana* nema jasnog odvajanja taksona zbog velike varijabilnosti tipske podvrste. Prva diskriminantna funkcija objašnjava oko 73 % a druga oko 13 % ukupne varijabilnosti. Tabela 4.4.5.5. pokazuje da iz podvrste *variegata* 12 od 52 jedinke prelaze u druge dve podvrste (9 jedinki prelazi u podvrstu *montana* a 3 u podvrstu *pisidica*), dok kod podvrste *montana* čak 18 od 89 jedinki smešta u druge taksone (11 u ssp. *variegata*, 6 u ssp. *pisidica* i 1 u vrstu *S. kitaibelii*). Kod vrste *S. kitaibelii* samo 2 jedinke prelaze u drugi takson, u *S. montana* ssp. *pisidica*. 6 od 87 jedinki *S. subspicata* ssp. *liburnica* prelaze u druge taksone (3 u *S. kitaibelii* a 3 u *S. subspicata* ssp. *subspicata*), dok kod podvrste *subspicata* svega 2 od 44 jedinke prelaze u druge taksone (1 u *S. montana* ssp. *pisidica* a 1 u *S. kitaibelii*).

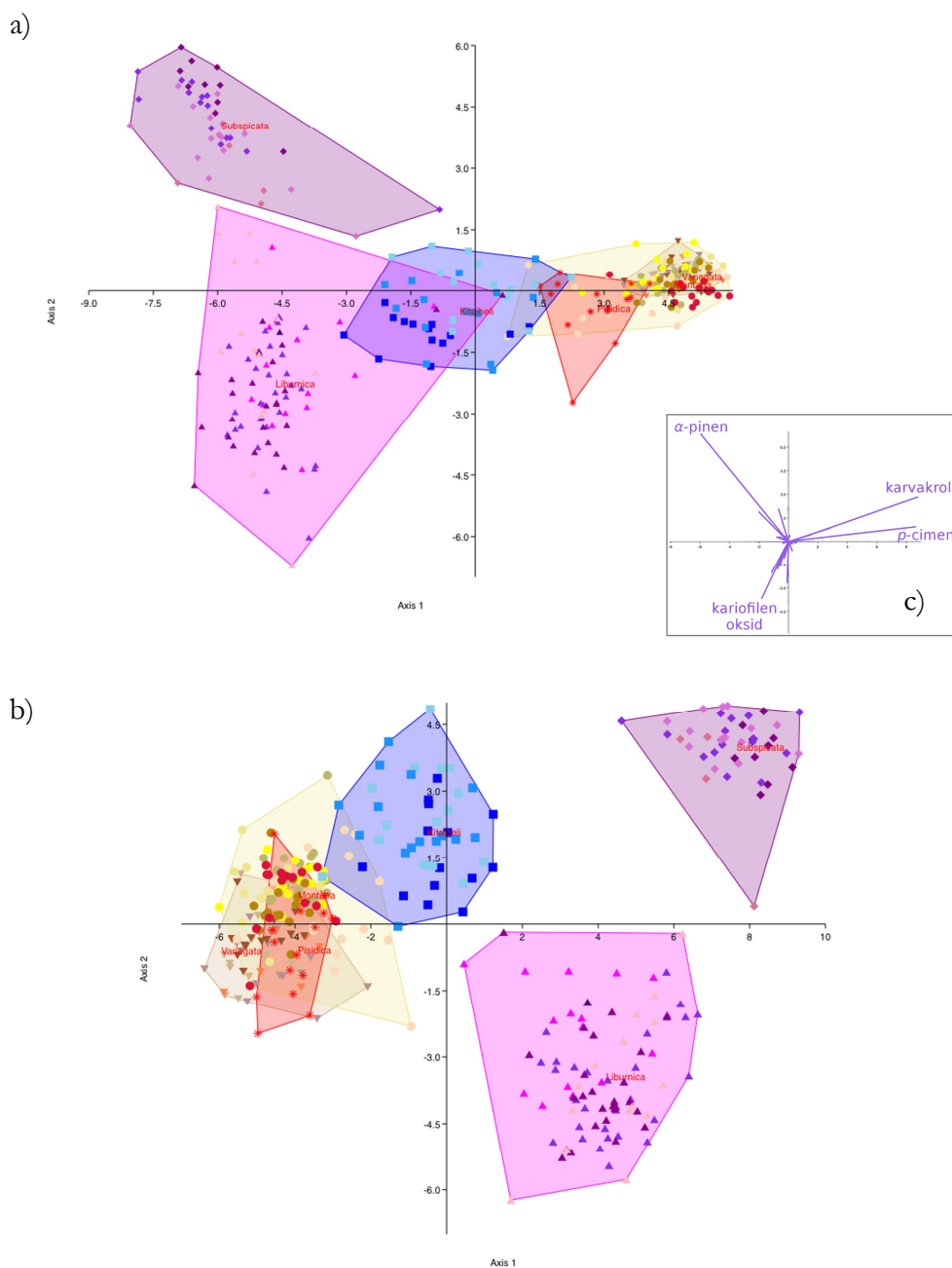
Analiza istih taksona sa transformisanim podacima je pokazala mnogo jasnije odvajanje podvrsta vrste *S. subspicata* između sebe i od ostalih taksona (prva diskriminantna osa objašnjava oko 63 % a druga oko 18 % ukupne varijabilnosti). Međutim, *S. kitaibelii* se delimično preklapa sa podvrstama *S. montana*, dok se one između sebe potpuno preklapaju. Matrica konfuzije sa transformisanim podacima (Tabela 4.4.5.5) pokazuje da taksoni *S. montana* ssp. *pisidica*, *S. kitaibelii* i *S. subspicata* ssp. *subspicata* ostaju u svojim grupama dok iz ostalih taksona svega nekoliko jedinki prelazi u drugi takson.

Tabela 4.4.5.4. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, vrste su grupe.

	Netransformisani podaci			Transformisani podaci			
	<i>montana</i>	<i>kitaibelii</i>	<i>subspicata</i>	<i>montana</i>	<i>kitaibelii</i>	<i>subspicata</i>	Σ
<i>montana</i>	155	1	0	156	0	0	156
<i>kitaibelii</i>	0	44	0	0	44	0	44
<i>subspicata</i>	1	4	126	0	1	130	131
Σ	156	49	126	156	45	130	331

Tabela 4.4.5.5. Matrica konfuzije za diskriminantnu analizu, taksoni su grupe.

	Netransformisani podaci						Transformisani podaci						Σ
	<i>variegata</i>	<i>montana</i>	<i>pisidica</i>	<i>kitaibelii</i>	<i>liburnica</i>	<i>subspicata</i>	<i>variegata</i>	<i>montana</i>	<i>pisidica</i>	<i>kitaibelii</i>	<i>liburnica</i>	<i>subspicata</i>	
<i>variegata</i>	40	9	3	0	0	0	48	3	1	0	0	0	52
<i>montana</i>	11	71	6	1	0	0	6	83	0	0	0	0	89
<i>pisidica</i>	0	0	15	0	0	0	0	0	15	0	0	0	15
<i>kitaibelii</i>	0	0	2	42	0	0	0	0	0	44	0	0	44
<i>liburnica</i>	0	0	3	0	81	3	0	0	0	1	86	0	87
<i>subspicata</i>	0	0	1	1	0	42	0	0	0	0	0	44	44
Σ	51	80	30	44	81	45	54	86	16	45	86	44	331



Slika 4.4.5.8. Scatter plot diskriminantne analize (DA)

a) taksoni; b) transformisani podaci za taksoni; c) glavne komponente;

S. montana ssp. *variegata*: ▽ Bovec; ▽ Crni vrh; ▽ Divača; ▽ Krk;ssp. *montana*: ● Jadranovo; ● Zlobin; ● Sibinj; ● Makarska; ● Gacko; ● Mokrinc;ssp. *pisidica*: * Galičica; *S. kitaibelii*: ■ Đerdap; ■ Temšica; ■ Poganovo;***S. subspicata*** ssp. *liburnica*: ▲ Divača; ▲ Jadranovo; ▲ Zlobin; ▲ Velebit; ▲ Đevrske;ssp. *subspicata*: ◆ Gacko; ◆ Biokovo; ◆ Orjen; ◆ Crkvice

5 Diskusija

5.1. Morfometrija

5.1.1. *Satureja montana*

Morfometrijski karakteri lista su veoma varijabilni. Njihova dužina je varirala od 14,2 kod ssp. *variegata* do 16 mm kod ssp. *pisidica*, a izmerene vrednosti se nalaze u opsegu koji je dao Šilić (1979) za dati karakter. Dužina čašice je pokazala manju varijabilnost i kretala se od 2,7 mm kod ssp. *variegata* i ssp. *pisidica*, do 3,7 mm kod ssp. *montana*. U poređenju sa literaturnim podacima, kod podvrste *pisidica* su pronađene manje čašice od očekivanih.

Sve analize su pokazale da proučavani morfološki karakteri kod *S. montana*, zbog izuzetno velike varijabilnosti unutar vrste, nemaju dovoljnu rezoluciju za odvajanje podvrsta, a još manje populacija tih podvrsta. Izuzetak su populacije Vodnjan, Zvornik i Neretva. Karakter dužina čašice je jedan od karaktera koje je predložio Šilić (1979) za diferencijaciju podvrsta. Dobijene vrednosti su u opsegu njegovih, sem za podvrstu *pisidica*. Ipak, treba uzeti u obzir da u ovoj analizi nisu korišćeni svi karakteri koje je on predložio. Karakteri poput dlakavosti stabljike ili lista nisu korišćeni jer su opisni. Urađena je kvantifikacija nekih od karaktera koje je Šilić (1979) pomenuo, kao što je broj peltatnih trihoma na licu i naličju lista i na čašici.

5.1.2. *Satureja kitaibelii*

Morfološki karakteri kod proučavanih populacija za čiju varijabilnost postoje literaturni podaci pokazuju vrednosti koje su na donjoj granici opsega literaturnih (Šilić, 1979). Karakter dužina lista je varirao od 15,7 mm (Temšica) do 17,6 mm (Poganovo), dok je karakter dužina čašice varirao od 3,4 mm (Poganovo) do 4 mm (Đerdap).

Analize su pokazale da postoji nepotpuno odvajanje između populacija na osnovu morfoloških karaktera. Najviše se razlikuju populacije Poganovo i Đerdap, dok populacija Temšica nalazi između druge dve.

Bioklimatski parametri i nadmorska visina su bili u korelaciji sa dva karaktera čašice (širinom i dužinom donjih zubaca). Uočene korelacije mogu biti posledica slučajnosti zbog malog broja populacija i korelisanosti samih podataka. Dodatne analize su potvrdile da nema statistički značajne korelacije između bioklimatskih podataka i sveukupne morfološke varijabilnosti. Međutim, pronađena je visoka korelacija između morfoloških karaktera i geografskog regiona, ali ona nije bila statistički značajna, što je verovatno posledica, pomenutog, malog broj populacija koje su korišćene u analizi. Ovo bi se sigurno promenilo ukoliko bi se u analizu uključile i dodatne populacije.

Iako ispitane jedinice poseduju veliku varijabilnost u morfološkim karakteristikama, činjenica da su u pitanju populacije koje žive u klisurama koje su prilično izolovane jedna od druge verovatno je doprinela nešto boljoj rezoluciji izmerenih morfometrijskih.

5.1.3. *Satureja subspicata*

Dužina lista je varirala između 14,1 mm (ssp. *liburnica*) i 14,9 mm (ssp. *subspicata*). Dužina čašice je pokazala jasno odvajanje između podvrsta, gde ssp. *liburnica* ima skoro dva puta duže čašice od tipske podvrste (6 mm kod prve a 3,5 mm kod druge). Izmerene vrednosti su u opsegu literaturnih (Šilić, 1979).

Podvrste *S. subspicata* se razlikuju na osnovu veličine čašice i broja žlezdanih trihoma čašice. Podvrsta *liburnica* se odlikuje nižim vrednostima na karakteristikama širina lista, broj žlezdanih trihoma na licu lista i čašici, dok svi ostali karakteri imaju više vrednosti od onih kod tipske podvrste. Pored opšteg odvajanja jedinki između podvrsta na osnovu karaktera čašice, uočljiva je i diferencijacija pojedinih populacija sa različitih lokaliteta na po nekoliko karaktera lista. Na primer, jedinke iz Zlobina imaju najveće čašice kao i najduže gornje zupce čašice, iz Jadranova najizduženije listove sa najvećom brojem žlezdanih trihoma na naličju lista, dok se jedinke iz Divače izdvajaju po dužini lista i malim brojem žlezdanih trihoma na naličju lista. Populacije Crkvice i Biokovo se jako odvajaju od ostalih na osnovu 3 karaktera lista, i to broja žlezdanih trihoma na licu lista kod populaciju Biokovo, dok su to širina lista i odnos dužine i širine lista kod druge.

Različiti rezultati dobijeni u multivarijantnim analizama su posledica drugačijeg položaja populacije Đevrske i Biokovo. U prvom slučaju, HCA (kvadrirane Mahalanobisove distance) i DA pokazuju geografsku distribuciju populacija od severa ka jugu uglavnom po pripadnosti podvrsti, pri čemu je kao najrazličitija izdvojena populacija Divača. Ostale populacije su grupisane u dve grane – jedna sadrži severne populacije, ssp. *liburnica*, dok su u drugoj južne populacije, ssp. *subspicata*, i populacija Đevrske. S druge strane, PCA i HCA sa Euklidskim distancama, nema jasne distribucije ni po podvrstama ni po geografskom regionu. Populacija Biokovo se izdvaja kao najrazličitija, dok su sve ostale grupisane u drugu granu, gde bi mogle da se izdvoje tri grupe (I grupa Crkvice, II grupa Jadrano-Zlobin-Velebit, III grupa ostale populacije). U slučaju kada se ukloni populacija Biokovo iz ove HCA analize, dobija se podela na dve grane – sa jedne strane su tri od pet populacija ssp. *liburnica* a sa druge sve ostale populacije ssp. *subspicata*, uključujući i Divaču i Đevrske.

Zbog preklapanja populacija je urađen test linearne diskriminantne klasifikacije populacije sa lokaliteta Đevrske. Ovaj test je smestio 11 od 15 jedinki iz populacije Đevrske

u ssp. *subspicata*, a svega četiri u ssp. *liburnica*. Populacija Đevrske raste u zoni preklapanja dve podvrste pa je moguće da su rezultati posledica ukrštanja ili je uzorak bio mešavina jedinki dve podvrste, na šta ukazuje test linearne diskriminantne klasifikacije. Rezultati ovog testa su u saglasnosti sa svim drugim multivarijantnim testovima. Diskriminantne analize urađene bez ove populacije pokazuju jasno razdvajanje između podvrsta.

Korelaciona analiza nije pokazala da postoji veza između morfoloških i bioklimatskih parametara, što govori da uticaj bioklimatskih uslova staništa na razvoj proučavanih karaktere mali ili nelinearan. Pronađena je korelacija između broja žlezda na naličju lista i izotermalnosti i padavina, koja je najverovatnije slučajna jer je Mantelov test potvrdio da ne postoji korelacija između svih merenih morfometrijskih i bioklimatskih parametara. Uočena je slaba korelaciju između morfometrijskih karaktera i geografskog regiona, kada se koriste kvadrirane Mahalanobisove distance. Korelacija sa geografskim regionom postaje jaka kada se izostave populacije koje se najviše odvajaju od svojih podvrsta – Divača, Biokovo i Crkvice.

Dodoš i sar. 2017. su pokazali jasnu diferencijaciju dve podvrste na osnovu manjeg broja karaktera i to isključivo karaktera čašice (dužina, širina, dužina gornjih i donjih zubaca) kao i dužine cvasti. S obzirom da se dužina cvasti pokazala kao nedovoljno informativna, ona nije uzimana u obzir u daljim analizama.

5.1.4 Usporedna morfometrijska analiza proučavanih taksona

Morfometrijski karakteri broj žlezdanih trihoma na naličju lista i veličina čašice, su pokazali da se sve tri vrste mogu razlikovati na univarijantnim analizama. Populacije vrste *S. subspicata* se odvajaju na osnovu karaktera čašice od *S. montana* i *S. kitaibelii*, dok se na osnovu oblika lista i broja žlezdanih dlaka listova dodatno odvajaju od vrste *S. montana*. *S. kitaibelii* se razlikuje od druge dve po veličini lista i broju žlezdanih trihoma na naličju lista, dok je razdaljina između najšireg dela lista i vrha lista odvoja samo od *S. subspicata*. Boksplotovi pokazuju odvajanje obe podvrste *S. subspicata* od ostalih a posebno se dobro odvoja podvrsta *liburnica* na osnovu karaktera broj žlezdanih trihoma čašice i veličine čašice. Kod *S. montana*, jedino se podvrste *montana* i *variegata* izdvajaju po krupnijim i čašicama sa većim brojem žlezdanih trihoma. Nije pronađen nijedan karakter koji razdvaja svih šest taksona. Uglavnom su pronađeni karakteri koji razdvajaju neki takson pojedinačno ili parove taksona. Najviše se izdvaja podvrsta *S. subspicata*, ssp. *liburnica*, *S. kitaibelii* se uglavnom teže odvoja od sve tri podvrste *S. montana* na većini karaktera. Postoje karakteri koji je odvajaju od jedne ili dve podvrste vrste *S. montana*.

Multivarijantne analize sa vrstama kao grupama su pokazale odvajanje između njih. Vrste *S. montana* i *S. kitaibelii* su sličnije. Kada su u pitanju podvrste, u zavisnosti od analize, dobijena su stabla različite topologije. Izdvajaju se podvrste *S. subspicata* u jednu granu dok je u drugoj grani, u zavisnosti od distanci, redosled sličnosti bio drugačiji. Kvadrirane Mahalanobisove distance izdvajaju u ssp. *variegata* kao najrazličitiju, dok *S. kitaibelii* grupišu sa preostale dve podvrste *S. montana*. Gowerove distance, formiraju dve grupe: tipsku podvrstu *S. montana* sa *S. kitaibelii*, i drugu sa preostale dve podvrste *S. montana*. Dok Euklidske distance nisu imale dovoljnu rezoluciju da razdvoje podvrste *S. montana* međusobno, a kao njima slična je *S. kitaibelii*. PCA sa 6 taksona pokazuje da postoje naznake diferenciranja, posebno između podvrsta *S. subspicata* i nešto manje kod *S. montana*, gde se posebno populacija Vodnjan odvoja od ostalih. Matrica konfuzije pokazuje da jedinke vrste *S. montana* imaju veliku morfološku varijabilnost koja smešta čak 25% individua u vrste *S. kitaibelii* i *S. subspicata*.

Dobijeni rezultati oslikavaju veliku morfološku varijabilnost unutar vrste *S. montana* i njenih podvrsta. S druge strane, podvrste *S. subspicata* pokazuju mnogo veću diferencijaciju između sebe nego što smo videli kod *S. montana*. Nešto manju diferencijaciju populacija možemo uočiti i kod *S. kitaibelii*. Na osnovu morfoloških karaktera je jako slična vrsti

S. montana iako je geografski izdvojena. Ova vrsta živi u klisurama duž Balkanskih planina, u Rumuniji, Srbiji i Bugarskoj i ima status endemita. *S. subspicata*, subendemit Balkana, naseljava takođe relativno manje područje – rastu duž Dinarida na Balkanskom poluostrvu. Jedino vrsta *S. montana* ima široku distribuciju. Izabrani morfološki karakteri oslikavaju evolutivnu istoriju ove tri grupe. Iz cele grupe, *S. subspicata* se pokazala kao morfološki najrazličitija od druge dve podvrste, a diferencijacija populacija i podvrsta kod ovog taksona ukazuje na duže periode izolacije. S obzirom na izbor staništa (nešto dublje u kopnu i generalno na većim nadmorskim visinama) nije isključeno da je protok gena između ovih populacija teži, te da je vremenom došlo do njihove veće genetičke diferencijacije. S druge strane, iako slabije, *S. kitaibelii* se isto odvaja od *S. montana*. Razlika se, pre svega, ogleda u tome da kod ovog taksona postoji blaga diferencijacija populacija. Intenzitet odvojenosti ukazuje ili na generalno veći genetički diverzitet koji je ovaj takson nasledio od predakog, ili na relativno skorbu izolaciju ovih populacija u klisurama centralnog Balkana. Konačno, diferencijacija populacija je gotovo nemoguća u okviru *S. montana*. Štaviše, tipska podvrsta pokazuje izuzetno veliku morfološku varijabilnost, dok je ona nešto uža kod druge dve podvrste, što može ukazivati na izolaciju po distanci, odnosno da će zbog oprašivača geografski bliže populacije biti i genetički sličnije. No, nemoguće je utvrditi na osnovu ovih karaktera koliki je trenutni protok gena, i šta je uzrokovalo diferencijaciju pojedinih populacija u odnosu na ostale zbog izuzetno velike varijabilnosti koja se pokazala na izabranim morfološkim karakteristikama.

Rezultati svih analiza, kako univarijantnih tako i multivarijantnih pokazuju da morfometrijski karakteri jasno odvajaju jedinke simpatrijskih populaciji vrsta *S. montana* i *S. subspicata*. Pored upečatljive boje kruničnih listića, odvajaju ih i karakteri čašice i broj žlezdanih trihoma. Veće čašice su kod *S. subspicata* dok je veći broj žlezdanih trihoma kod *S. montana*. Pored najkrupnijih peltatnih trihoma, na površini vegetativnih i reproduktivnih organa kod ove dve vrste, postoje i sitnije kapitatne trihome. U proučavanim vrstama je prisutan jedan tip peltatnih trihoma i tri tipa kapitatnih trihoma na površini listova i čašice (Marin i sar. 2010; Dunkić i sar. 2012).

Dobijeni rezultati pokazuju da je veličina čašice najinformativniji karakter za odvajanje između taksona.

5.2. Flavonoidi

5.2.1. *Satureja montana*

U profilu površinskih flavonoida listova primorskih populacija *S. montana* dominira 5,6-diOH,7,3',4'-triMe flavon. Najveći udeo je pronađen u populaciji Bovec 44,6%. Udeo ove komponente opada duž Jadranske obale od severa ka jugu. U kontinentalnim populacijama (Zvornik, Neretva, Gacko i Galičica) dominantna komponenta je cirzimaritin i u nekim populacijama čini skoro 50% sastava. Pored 5,6-diOH,7,3',4'-triMe flavona u visokom procentu bili su zastupljeni i timonin, cirzimaritin i ksantomikrol.

Na osnovu sastava, od tri proučavane podvrste, najviše se odvaja *pisidica* na osnovu četiri flavonoida od druge dve i na dodatna dva samo od podvrste *variegata*. S druge strane, primorske populacije koje žive u zoni preklapanja između podvrsta *montana* i *variegata* ne pokazuju jasnu diferencijaciju dok se populacije sa ostalih lokaliteta ssp. *montana* dublje u kontinentu jasno izdvajaju. Populacija ssp. *pisidica* se odvaja od ostalih na osnovu 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe flavona i ksantomikrola.

Pronađene su korelacije između više komponenti. Uočena korelacija je verovatno posledica biosintetskog puta. Berim i sar. (2016) su pokazali da je kod bosiljka cizimaritin prekursor za salvigenin koji je dalje prekursor za gardenin B. Pored ovog, postoji i drugi biosintetski put, gde od cirzimaritina nastaje ladanein koji je prekursor za salvigenin i dalje gardenin B. S obzirom na to da u ispitivanim uzorcima nije detektovan ladanein, verovatnije je da se sinteza odvija na prvi način. Ksantomikrol može da nastane iz cirzimaritina ili iz timusina i može da bude prekursor za gardenin B (Fattahi i sar. 2014). Dobijeni rezultati ukazuju na moguće puteve biosinteze gardenina B, koja se verovatno odvija i preko salviginina i ksantomikrola dok ksantomikrol nastaje od cirzimaritina i od timusina (potencijalno neidentifikovano jedinjenje). 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe flavon najverovantije nastaje od ksantomikrola i cirzimaritina.

Multivarijante analize su pokazale da tipska podvrsta, koja ima najveći areal, ima veliku varijabilnost u poređenju sa druge dve podvrste. Ako dajemo prednost varijabilnosti komponenti izdvaja se ssp. *pisidica*, a u slučaju dominantnih komponenti izdvaja se ssp. *variegata*. Populacije se grupišu prema geografskom položaju, sa razlikom u položaju populacije Krk. Najviše se izdvajaju hercegovačke, odnosno populacije koje žive dublje u kontinentu. Dobija se odvajanje na tri grupe: alpsko-istarsko-severnojadranska,

herecgovačko-južnojadranska i makedonska. Rezultati pokazuju da su geografski bliže populacije sličnije.

Dobijeni rezultati za površinske flavonoide kod podvrsta i populacija *S. montana* pokazuju da je profil pod velikim genetičkim uticajem, posebno ako se uzme u obzir važna biološka uloga flavonoida: antimikrobna, antioksidativna, zaštita od UV zračenja (Cuadra i sar. 1997; Ryani sar. 2002; Andersen i Markham, 2005). Sastavi površinskih flavonoida su sličniji kod populacija koje su geografski bliže, što govori o razmeni genetičkog materijala između njih. Niska geografska korelacija govori o jakom protoku gena između populacija ili o njihovoj skorijoj izolaciji. Uprkos velikoj varijabilnosti profila flavonoida, ne postoji selekcija hemotipova prema bioklimatskim parametrima, najverovatnije zbog većeg broja zaštitnih sistema koje ove biljke poseduju da bi preživele na kseromorfnim staništima sa velikom insolacijom (žlezdane dlačice bogate etarskim uljima, alkani na površini kutikule). Ipak, na trenutnom setu podataka je moguće uočiti opšti trend distribucije od severa ka jugu duž Jadranske obale i dalje u kontinent.

5.2.2. *Satureja kitaibelii*

Profilom flavonoida izolovanim sa površine listova jedinki *S. kitaibelii* dominiraju iste komponente kod sve tri populacije i to cirzimaritin, ksantomikrol i gardenin B, razlika je u njihovom udelu u profilu. U populacijama Đerdap i Temšica je ksantomikrol dominantna komponenta, dok je u populaciji Poganovo to cirzimaritin.

Univarijante analize su pokazale da se sve tri populacije mogu razlikovati. Najviše se razlikuje populacija Temšice na osnovu dva flavonoida – 5,4-diOH-6,7-diOMe flavanona i gardenina B.

Pronađen je znatno manji broj korelacija između flavonoida kod populacija *S. kitaibelii*. Neidentifikovano jedinjenje (potencijalno timusin) je u korelaciji sa 5,6-diOH-7,3',4'-triMe flavonom i sa timoninom. Pronađena je korelacija između gardenina B, cirzimaritina i 5,4-diOH-6,7-diOMe flavanona. Ovi rezultati mogu da upućuju na drugačiji put biosinteze kod *S. kitaibelii*, međutim, kako je reč o svega tri populacije, nije moguće sa sigurnošću tvrditi da uočena korelacija nije posledica slučajnosti.

Multivarijantne analize su pokazale odvajanje između populacija. Klaster analiza je pokazala da su u slučaju dominantnih komponenti bliže populacije Poganovo i Đerdap a u slučaju opšte varijabilnosti svih uočenih komponenti sličnije Đerdap i Temšica. Iako je regresiona analiza pokazala umerenu statistički značajnu korelaciju između nekih bioklimatskih parametara vezanih za temperaturu, oni više deluju kao posledica visoke međusobne veze između flavonoida. Mantelov i parcijalni Mantelov test su utvrdili da su rezultati regresione analize posledica slučajnosti, međutim, iako nije bila statistička značajna, utvrđena je moguća korelacija sa geografskim regionom. Bez uključivanja dodatnih populacija ovo nije moguće razrešiti, no, ovi rezultati ukazuju da i dalje postoji protok gena ili da su se populacije relativno skorije odvojile. Površinski flavonoidi kod *S. kitaibelii* ukazuju na odvajanje populacija u okviru iste vrste. Ovo je verovatno posledica fragmentisanosti areala.

5.2.3. *Satureja subspicata*

U sastavu flavonoida je kod svih proučavanih populacija ove vrste dominirao je ksantomikrol, čija se količina kretala od 24,8% (Orjen) do 58,4% (Jadranovo) dok je druga dominantna komponenta bio cirzimaritin kod većine populacija. Generalno, profili flavonoida između dve podvrste se razlikuju po količinama i dominantnim komponentama. Podvrsta *subspicata* ima mnogo manju varijabilnost, sve tri proučavane populacije imaju iste dominantne komponente cirzimaritin, ksantomikrol i 8-metoksicirzilneol ali sa manjim udelom.

Podvrsta *liburnica* se odlikuje većim količinama dva flavonoida, cirzimaritina i ksantomikrola dok je kod *S. subspicata* prisutno nekoliko različitih flavonoida slične zastupljenosti: cirzimaritin, ksantomikrol, timonin, 8-metoksicirzilneol. Populacija Đevrske (ssp. *liburnica*), kao i na morfometrijskim podacima je sličnija populacijama tipske podvrste zbog veće količine timonina ali je i dalje prisutan udeo ksantomikrola kao i kod ostalih populacija podvrste *liburnica*. Jedinke ove populacije žive u zoni preklapanja areala ove dve podvrste te dobijeni rezultati mogu da ukazuju na pojavu ukrštanja između njih. Uočeno je dosta visokih korelacija između flavonoida kao i kod *S. montana*. Timonin je korelisan sa 8-metoksicirzilneolom i ksantomikrolom.

Regresiona analiza je pokazala mnogo više korelacija između profila flavonoida i bioklimatskih parametara nego što je to bio slučaj kod prethodnih vrsta. Pokazana je korelacija sa nadmorskom visinom i najvećim brojem bioklimatskih parametara temperature i flavonoida koji su na prethodnim testovima najbolje oslikavali diferencijaciju između populacija, izuzev 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe flavona. Gardenin B i cirzimaritin su korelisani sa parametrima, uglavnom, vezanim za padavine. Iako je uočeno dosta korelacija, one mogu biti posledica dosta različitih staništa sa kojih su uzorkovane populacije ove dve podvrste. Populacije podvrste *liburnica* su sve uzorkovane na visinama od 172 do 400 m.n.v., sem dve populacije koje su rasle na 800 m.n.v. (Zlobin i Velebit), dok su sve populacije tipske podvrste uzorkovane na visinama iznad 1.000 m.n.v. Ovo može da ukazuje na selekciju hemotipova koji su prilagođeni datim uslovima staništa – nadmorskoj visini i lokalnim bioklimatskim uslovima, ili može biti posledica ovakvog uzorkovanja. Mantelov i parcijalni Mantelov test, pak, pokazuju da nema korelacije između bioklimatskih parametara i flavonoidnih profila, ali da postoji statistički značajna korelacija sa geografskim regionom. Geografski bliže populacije su sličnije, što smo videli i kod *S. montana*.

Flavonoidi kod vrste *S. subspicata* ne samo što ocrtavaju razlike između dve podvrste, već i jasno razdvajaju populacije, za razliku od vrste *S. montana*, gde je varijabilnost flavonoida unutar podvrsta *montana* i *variegata* jako velika pa ne mogu da se uoče razlike na populacionom nivou. Ovi rezultati su u saglasnosti sa morfološkim parametrima, kao i sa rezultatima za druge dve vrste.

5.2.4. Uporedna analiza flavonoida kod proučavanih taksona

Kod ostalih vrsta iz roda *Satureja* površinski flavonoidi su rađeni kod nekoliko vrsta sa prostora Balkana kod *S. horvatii* i *S. visianii*, *S. cuneifolia* i *S. adamovicii* (Marin i sar. 2002, 2003), pri čemu su kod svega dve vrste, pored određivanja sastava i kvantifikovali njihove količine, *S. thymbra* i *S. spinoza* iz Grčke, (Skoula i sar. 2005.). Rezultati tog istraživanja pokazuju, takođe, da postoje razlike u profilu između dve vrste.

Univarijante analize pokazuju odvajanje između sve tri vrste. Matriks plot je podržan rezultatima analize varijanse. ANOVA, gde su grupe vrste, je pokazala odvajanje na osnovu timonina i 5,6-diOH-7,3',4'-triMe flavona dok ostale komponente razlikuju parove vrsta. *S. montana* se odvaja od druge dve vrste na osnovu tri flavonoida (5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe, nepoznati i ksantomikrol). Isti broj flavonoida odvaja i *S. kitaibelii* i to 5,4'-diOH-6,7-diOMe flavanon, cirzimaritin i gardenin B. *S. subspicata* se razdvaja samo na osnovu dva flavonoida i to 8-metoksicirziliola i 8-metoksicirzilinaeola. *S. montana* ssp. *variegata* se od ssp. *montana* i ostalih taksona razlikuje na osnovu ND. *S. subspicata* ssp. *subspicata* se razlikuje od ostalih na osnovu 8-metoksicirziliola i 8-metoksicirzilinaeola a od *S. subspicata* ssp. *liburnica* na osnovu *salvigenina*. Ksantomikrol odvaja *S. subspicata* ssp. *liburnica* od svih ostalih, zbog velikih količina ovog jedinjenja u profilu. Ostali taksoni se grupišu u dve grupe: (1) podvrste *S. montana*, ssp. *montana* i ssp. *variegata* i *S. subspicata* ssp. *subspicata* i (2) u kojoj su *S. montana* ssp. *pisidica* i *S. kitaibelii*.

Linearna regresija je pokazala da kod vrsta *S. montana* i *S. subspicata* postoji mnogo veći broj umerenih korelacija između flavonoida. Dosta ovih korelacija verovatno je posledica puta biosinteze. Uočene su svega četiri korelacije kod vrste *S. kitaibelii*, pri čemu je visoka korelacija između neidentifikovanog jedinjenja i cirzimaritina, dok su ostale umerene.

Klaster analiza sa vrstama pokazuje da su po kvalitativnom sastavu profila flavonoida sličnije *S. montana* i *S. kitaibelii* (kvadirane Mahalanobisove distance) dok Gowerove distance pokazuje da su sličnije *S. montana* i *S. subspicata*. Za Euklidske distance, sličnije su *S. kitaibelii* i *S. subspicata*. Razlika između kladograma je verovatno posledica velike varijabilnosti profila flavonoida kod *S. montana* i jake odvojenosti između dve podvrste *S. subspicata*. Klaster analiza svih šest taksona je na sva tri tipa distanci pokazala grupisanje u jednu granu tri različita taksona: *S. montana* ssp. *pisidica*, *S. kitaibelii*, *S. subspicata* ssp. *liburnica*, na osnovu

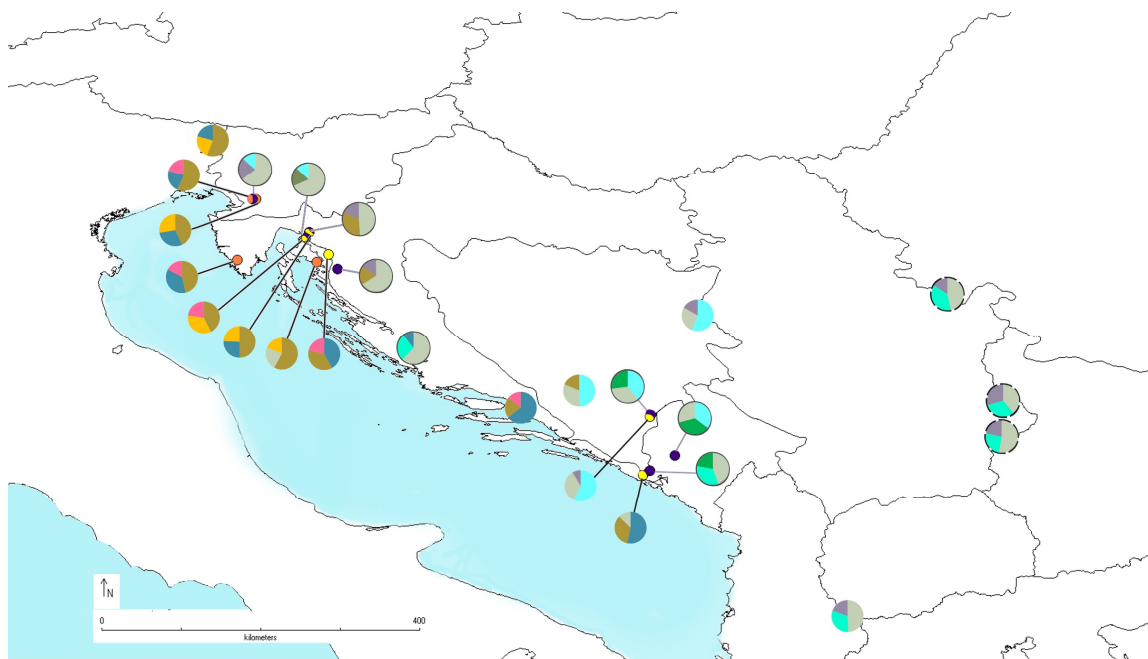
ksantomikrola, cirzimaritina, 5,6-diOH-7,3',4'-triOMe flavona i 5,4'-diOH-6,7-diOMe flavanona. Ostali taksoni su grupisani na različite načine u zavisnosti od distanci. Analiza varijanse i diskriminantna analiza su dale slične rezultate, razlika je u broju komponenti koje opisuju ukupnu varijabilnost. Analiza varijanse pokazuje da se celokupna varijabilnost može opisati na osnovu tri komponente: cirzimaritina, ksantomikrola i 5,6-diOH-7,3',4'-triOMe flavona, dok ostale komponente doprinose u manjoj meri. Diskriminantna analiza, pak, ističe samo dve komponente, ksantomikrol i 5,6-diOH-7,3',4'-triOMe flavon. Scatter plot PCA sa vrstama pokazuje da postoji velika varijabilnost sastava površinskih flavonoida kod vrste *S. montana* koja pokriva druge dve vrste. Scatter plot sa taksonima pokazuje odvajanje uz minimalno preklapanje između podvrsta *S. subspicata*. Uočava se i grupisanje populacija vrste *S. kitaibelii* sa populacijama *S. montana* ssp. *montana*, koje žive u kontinentu (Zvornik, Neretva i Gacko) kao i populacije Galičica (*S. montana* ssp. *pisidica*) na osnovu cirzimaritina i ksantomikrola dok se preostale populacije *S. montana* ssp. *montana* i ssp. *variegata* (primorske) odvajaju na osnovu 5,6-diOH-7,3',4'-triOMe flavona. Analiza glavnih komponenti pokazuje da grupisanje tri različita taksona (*S. montana* ssp. *pisidica*, *S. kitaibelii* i *S. subspicata* ssp. *liburnica*), viđeno na klaster analizi, posledica veće količine ksantomikrola, cirzimaritina i gardenina B kod pomenutih taksona. Sličan raspored populacija, ali uz jače odvajanje je dala i diskriminantna analiza.

Dobijeni rezultati, posebno oni kod simpatrijskih populacija, pokazuju da su uočene razlike posledica genetičkih faktora. Velika diferencijacija je uočena između populacija dve podvrste *S. subspicata*. Kod sve tri vrste je uočeno da su geografski bliže populacije i sličnije po profilu flavonoida, što je posebno dobro uočljivo kod *S. montana* (Slika 5.2.4.1).

Analize simpatrijskih populacija su dodatno potvrdile uticaj genetičkih faktora na sastav flavonoida, jer su se u svim slučajevima vrste koje rastu na istom staništu jako odvajale. Klaster analiza pokazuje jasno grupisanje jedinki prema pripadnosti vrsti na oba tipa distanci (Euklidske i Gowerove), samo se razlikuju dužina grana.

Analiza varijansi i diskriminantna analiza pokazuju vrlo jasno razdvajanje simpatrijskih populacija. Izdvojene komponente se preklapaju sa onima koje je pronašla ANOVA. Diskriminantna analiza ističe značaj ksantomikrola, 5,6-diOH-7,3',4'-triOMe flavona i cirzimaritina i timonina za razdvajanje ovih simpatrijskih populacija. Najviše su udaljene populacije sa lokaliteta Gacko a najmanje sa lokaliteta Zlobin. Rezultati flavonoida mnogo bolje oslikavaju razliku između simpatrijskih populacija nego morfološki karakteri.

Slično kao sa morfološkim karakteristikama, moguće je uočiti jako odvajanje *S. subspicata* od druge dve vrste, ali i jaku diferencijaciju unutar ovog taksona, kako između podvrsta tako i između populacija. Trend odvajanja populacija kod *S. kitaibelii* je ovde još uočljiviji, dok je diferencijacija populacija bila najslabija kod *S. montana*, pre svega zbog izuzetno velike varijabilnosti u sastavu površinskih flavonoida unutar populacija. Drugim rečima, rezultati površinskih flavonoida podržavaju rezultate morfološke analize.



Slika 5.2.4.1. Mapa distribucije površinskih flavonoida kod proučavanih populacija;

■-5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe flavon; ■-neidentifikovano jedinjenje; ■-timonin;
 ■-5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon; ■-cirzimaritin; ■-ksantomikrol; ■-8-metoksicirzilineol;
 ■-salvigenin; ■-gardenin B; punom linijom su uokvirene populacije *S. subspicata*,
 isprekidanom linijom su uokvirene populacije *S. kitaibelii*.

5.3 Alkani

5.3.1. *Satureja montana*

U površinskim voskovima izolovanim sa listova *S. montana* je bilo 17 alkana, dužine od 19 do 35 ugljenikovih atoma. Dominirala su dva alkana nonakozan (C_{29}) i hentriakontana (C_{31}), dok je prateći bio tritriakontan (C_{33}). Prosečna dužina lanca (N) je varirala od 28 do 30, a sa njom i disperzija oko nje (d).

Postoji velika varijabilnost u profilima alkana između populacija posebno variraju četiri komponente (C_{27} , C_{29} , C_{31} i C_{33}). Populacije se prema dominantnosti komponenti mogu smestiti u jednu od tri grupe, prva grupa je sa dominantnim C_{29} gde su populacije Crni vrh, Divača, Vodnjan i Mokrine, u drugoj grupi sa dominantnim C_{31} su populacije Jadranovo, Krk, Zvornik i Neretva, a treću grupu čine populacije sa sličnim količinama C_{29} i C_{31} Bovec, Gacko, Galičica i Zlobin. Najviše se izdvajaju populacije Divača (C_{24}), Jadranovo (C_{27} i C_{31}), Vodnjan (C_{34}) i Zlobin (C_{35}). Međutim, podvrste se slabo odvajaju, ssp. *variegata* se odvaja na osnovu C_{19} od ssp. *montana*, a od ssp. *pisidica* na osnovu C_{30} , C_{32} i C_{34} . Tri komponente odvajaju ssp. *pisidica* od tipske podvrste (C_{25} , C_{27} i d).

Statističke analize su pokazale da ne postoji jasno odvajanje podvrsta na osnovu površinskih alkana. Uočava se odvajanje pojedinih i grupisanje drugih populacija na osnovu dominantne komponente. Međutim, ova grupisanja nisu ni po geografskom položaju, ni po bioklimatskim parametrima ni po pripadnosti podvrsti. Drugim rečima, rezultati profila alkana proučavanih populacija zbog velike varijabilnosti unutar podvrsta ne ukazuju na odvajanje između njih, iako je nešto bolja situacija sa populacijama gde se već uočavaju razlike.

Preliminarni rezultati na manjem broju populacija (Dodoš i sar. 2015) su ukazali na to da profili površinskih alkana mogu da budu informativni karakteri za odvajanje podvrsta. Posebno se na svim multivarijantnim testovima jasno odvajala podvrsta *pisidica* dok su se druge dve donekle preklapale. Međutim, naknadne analize su utvrdile da je uočena jaka diferencijacija posledica različite fenofaze uzoraka. Naime, sve populacije ssp. *montana* i ssp. *variegata* su bile u fazi punog cvetanja dok je populacija ssp. *pisidica* uzorkovana neposredno pred početak cvetanja. Kada su korišćeni podaci za sve populacije uključujući populacije u drugoj fenofazi, na PCA se vidi da se populacije podvrste *pisidica* koje su bile u drugačijoj fenofazi odvajaju po dominaciji alkana kraćeg niza od ostalih populacija. No, populacija

Galičica u obe fenofaze je imala najveći udeo C_{29} , međutim, u fazi pre cvetanja je imala skoro isti udeo C_{27} i C_{31} , dok u fazi cvetnja udeo C_{27} je opao a udeo C_{31} porastao skoro 50%. Naknadno je utvrđena razlika u profilu *n*-alkana u zavisnosti od fenofaze kod ispitivanih taksona. Naime, u profilu mlađih listova (faza pre cvetanja) dominiraju alkani kraćeg lanca, dok kod potpuno formiranih i zrelih listova dominiraju alkani dužeg lanca (Prasad i Gülz, 1990; Jetter i Schäffer, 2001; Richardson i sar. 2005; Roy i sar. 2012).

5.3.2. *Satureja kitaibelii*

U profilu vrste *S. kitaibelii* prisutan je isti broj *n*-alkana i dužine lanaca kao i kod *S. montana*. Međutim, kod *S. kitaibelii* dominira hentriakontan (C_{31}) a zatim sledi nonakozan (C_{29}) i tritriakontan (C_{33}). Prosečna dužina lanaca je bila 29,4 dok je disperzija bila oko 4,1.

Sastav površinskih alkana kod populacija *S. kitaibelii* je pokazao diferencijaciju između njih na svim analizama, posedno se jako izdvaja populacija Đerdap. Uočena je korelacija nekoliko alkana sa bioklimatskim podacima i nadmorskom visinom. Nadmorska visina je negativno korelisana sa alkanima kraćeg lanca od C_{31} (C_{27} i C_{29}), a pozitivno sa dužim (C_{32} i C_{34}). Drugim rečima, što je veća nadmorska visina duži su alkani. Sličan odnos pozitivno i negativno korelisanih vrednosti je primećen i kod drugih korelisanih alkana i parametara. Međutim, ove korelacije iako jake nisu statistički značajne.

Rezultati analiza se prekalaju sa rezultatima dobijenim za morfološke karaktere i flavonoide. Populacije ove vrste žive u klisurama gde je smanjen protok gena između njih, pa su one više diferencirane.

5.3.3. *Satureja subspicata*

Površinski voskovi izolovani sa listova *S. subspicata* su bili bogati alkanima dugog niza od C_{27} do C_{33} . Ova jedinjenja predstavljaju oko 97% ukupnog sadržaja alkana. Za razliku od prethodnih vrsta kod ove postoje samo dva dominantna alkana i to nonakozan (C_{29}) i hentriakontan (C_{31}), jedino kod populacije Divača ova dva alkana su kodominantna.

Prosečna dužina lanca (N) se kretala od 28,5 do 29,7 dok se disperzija oko nje (d) kretala između 1,3 i 3,3 u svim populacijama. Populacije podvrste *liburnica* su imale veće vrednosti za N , sem populacije Velebit koja je imala niže vrednosti, a populacije tipske podvrste su imale uglavnom niže vrednosti, sa izuzetkom populacije Crkvice.

Urađene analize pokazuju da se podvrste *S. subspicata* mogu odvojiti na osnovu profila alkana, međutim, to nije slučaj sa populacijama. Tipska podvrsta se odlikuje alkanima nešto kraćeg niza (C_{27} , C_{29} i C_{31}), dok alkane dužeg niza C_{29} , C_{31} i C_{33} imaju populacije ssp. *liburnica*. Izuzetak su dve populacije, po jedna iz svake podvrste koje imaju obrnute dominantne komponente (kraće lance kod populacije ssp. *liburnica* i duže kod populacije ssp. *subspicata*). Pomenute populacije su jedine koje imaju drugačiju ekspoziciju u odnosu na ostale proučavane populacije.

Analiza alkana sa bioklimatski podacima i nadmorskom visinom je pokazala da ne postoji statistički značajna korelacija između njih. Ipak, uočena je blaga korelacija između nadmorske visine i dominantnih alkana, koja je posledica nadmorskih visina sa kojih su uzorkovane jedinke. Populacije ssp. *liburnica*, koje imaju duže alkane, su uzorkovane ispod 1.000 m.n.v. dok su populacije sa kraćim alkanima, ssp. *subspicata*, uzorkovane između 1.000 i 1.600 m.n.v. Takođe, pokazana je jaka korelacija sa ekspozicijom. Populacije Velebit i Crkvice rastu na staništima koja imaju istočnu ekspoziciju, dok su sve ostale populacije imale zapadnu ekspoziciju. Uticaj ekspozicije na sadržaj etraskog ulja je primećen kod vrste *S. kbuzistanica* (Hadian i sar. 2011). Mantelov i parcijalni Mantelov test su pokazali blagu ali satistički značajnu korelciju između profila alkana i geografskog regiona, koja se povećala izostavljanjem populacije Velebit iz testa. Što znači da, uz nešto nižu rezoluciju, alkani pokazuju istu tendenciju kao i flavonoidi i ispitivani morfološki karakteri kod ove vrste.

Profil površinskih alkana se pokazao kao informativan karakter za odvajanje podvrsta *S. subspicata*, bez obzira što u sastavu dominiraju samo dve komponente. Međutim, prilikom uzorkovanja je potrebno voditi računa i o ekspoziciji staništa na kojima biljka raste, jer to takođe, može uticati na njihov sastav (Dodoš i sar. 2017).

5.3.4. Usporedna analiza alkana kod proučavanih vrsta

Epikutikularni voskovi imaju veoma važne funkcije za razvoj i život biljke na datom staništu, kao što su sprečavanje prekomerne i nekontrolisane transpiracije, zaštita od herbivora i patogena, od prekomernog UV zračenja (Kerstiens 1996a; Knoll i Schreiber, 2000; Riederer i Schreiber 2001; Ristic i Jenks 2002; Oliveira i sar. 2003, Riederer i Muller, 2006). Obavljanje ovako važne uloge im omogućava njihov sastav, koji utiče kako na pojavu 3D struktura koje se nalaze na površini kutikule tako i na njihovu tačku topljenja jer smeša ima višu tačku topljenja od čistih jedinjenja (Rajčević 2015). Biosinteza epikutikularnih voskova je pod strogom genetičkom kontrolom i odgovara kako na razvojne tako i na sredinske uticaje (patogeni, svetlo, hladnoća, nedostatak vode i osmotski stres).

Sastav epikutikularnih voskova se menja tokom razvoja biljnih organa – mladi listovi imaju drugačiji profil u odnosu na potpuno formirane listove (Roy i sar. 2012; Richardson i sar. 2005; Jetter i Schäffer, 2001, Prasad i Gülz, 1990), pored toga i sredinski faktori: suša (Oliveira i sar. 2003), patogeni (Yadav i sar. 2005) i UV zračenje (Dodd i Afazal-Rafii, 2000) utiču na njihov sastav.

Površinski alkani kod sve tri vrste na svim analizama pokazuju odvajanje između njih. Univarijantne analize i HCA pokazuju da se najviše odvaja vrsta *S. subspicata*, a da su *S. montana* i *S. kitaibelii* sličnije. PCA i DA pokazuju preklapanje između vrsta, koje je mnogo manje na scatter plotu diskriminantne analize. Obe analize su pokazale da C_{29} , C_{31} i C_{33} alkani koji odvajaju vrste. Iako postoji preklapanje ono je najmanje između vrsta *S. subspicata* i *S. kitaibelii*, dok *S. montana* pokazuje najveću varijabilnost.

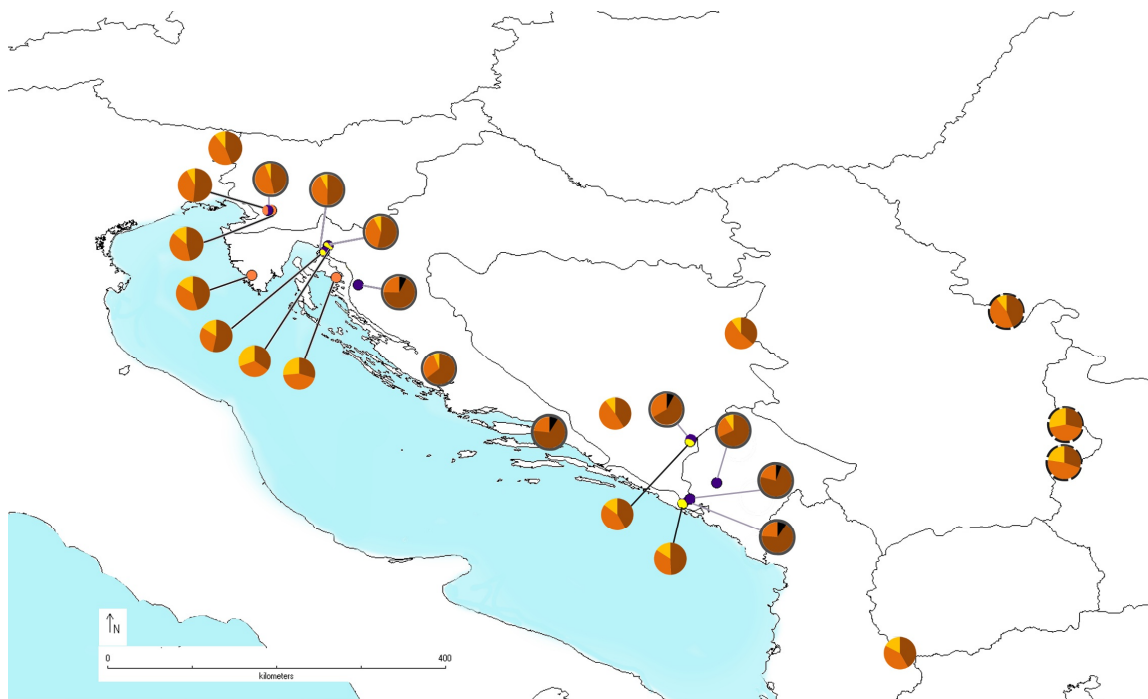
Kada se posmatra šest proučavanih taksona, situacija je malo jasnija. Uočljivije je koje populacije, odnosno jedinke, doprinose smanjenju diferencijacije. Podvrste *S. subspicata* se najviše odvajaju od svih ostalih taksona na osnovu parnih alkana i to kod ssp. *subspicata* su C_{28} i C_{32} , a kod ssp. *liburnica* C_{30} . *S. kitaibelii* se najviše odvaja od obe podvrste *S. subspicata* i nema preklapanja između njih, dok se najslabije odvaja od *S. montana* ssp. *pisidica*. Klaster analiza je sa kvadriranim Mahalanobisovim i Euklidskim distancama pokazala slične rezultate, razlika je samo u položaju *S. kitaibelii* u drugoj kladi na kladogramima. Gowerove distance daju potpuno drugačije rezultate na osnovu opšte varijabilnosti, izdvajaju se *S. kitaibelii* i *S. montana* ssp. *pisidica* u jednu granu, dok se druga deli na *S. subspicata* ssp. *subspicata*, zatim *S. subspicata* ssp. *liburnica* i grupu gde su preostale dve podvrste *S. montana*.

PCA je pokazala rezultate koji odgovaraju klaster analizi sa prva dva tipa distanci, dok je DA pokazala rezultate koji odgovaraju Gowerovim distancama. Scatter plot PCA pokazuje da se jedinke populacije Đerdap *S. kitaibelii* okružuju jedinke *S. montana* ssp. *pisidica*, a scatter plot DA pokazuje da su jedinke ova dva taksona izmešane.

Radi utvrđivanja koliki uticaj imaju ekološki faktori na sastav alkana rađene su univarijantne i multivarijante analize sa četiri lokaliteta gde *S. montana* i *S. subspicata* žive simpatrijski, tj. izložene su istim ekološkim uslovima. Matriks plot i ANOVA sa *post-hoc* testom su pokazali da se sve populacije koje žive u istim ekološkim uslovima razlikuju. Matriks plot za razliku od *post-hoc* testa pokazuje da se simpatrijske populacije sa lokaliteta Gacko najviše razlikuju, dok su populacije sa lokaliteta Divača najsličnije. U *post-hoc* analizi je bilo obrnuto. Multivarijante analize HCA, PCA i DA su pokazale rezultate kao i matriks plot. Simpatrijske populacije sa lokaliteta Gacko, Zlobin se jasno odvajaju na svim pomenutim analizama. Međutim, populacije koje žive zajedno na lokalitetima Divača i Jadranovo pokazuju preklapanje između sebe, iako je ono malo. DA pokazuje potpuno odvajanje svih parova populacija na svim ispitivanim lokalitetima. Rezultati potvrđuju da je profil alkana pod jakom genetičkom kontrolom. Jedinke iz populacija Divača i Jadranovo koje su se našle u drugim grupama ukazuju na potencijalnu hibridizaciju između vrsta koja žive simpatrijski.

Površinski alkani su kod svih proučavanih taksona iste dužine, od C_{19} do C_{35} , ali se njihovi profili jasno razlikuju (Slika 5.3.4.1). U profilu *n*-alkana kod *S. montana* dominiraju dva alkana nonakozan (C_{29}) i hentriakontana (C_{31}), a prateći je tritriakontan (C_{33}). Kod *S. kitaibelii* je dominantan hentriakontan (C_{31}), manji udeo ima nonakozan (C_{29}) i još manji tritriakontan (C_{33}). Profilom *S. subspicata* dominiraju dva alkana, prvi čini više od 50% sastava (nonakozan (C_{29})), a drugi je hentriakontana (C_{31}) sa 27,6%. Izuzetak je populacija Divača kod koje su ova dva alkana kodominantna.

Takođe, može se primetiti da postoji različita varijabilnost podataka kod različitih taksona. Iako manje rezolucije od flavonoida, i površinski alkani kod odabranih taksona daju istu sliku. Najviše se odvaja *S. subspicata*, šta više diferencijacija podvrsta kod ovog taksona je jako uočljiva. Potom *S. kitaibelii* kod koje, iako nema razlika u redosledu dominantnih komponenti između populacija ipak pokazuje njihovu diferencijaciju. I končano, *S. montana* sa izuzetno velikom varijabilnošću, koja je toliko velika da se mogu odvojiti samo primorske od kontinentalnih populacija, dok je diferencijacija između podvrsta i lokaliteta više nego upitna.



Slika 5.3.4.1. Mapa distribucije alkana kod proučavanih populacija; ■ - C_{27} ; ■ - C_{29} ; ■ - C_{31} ; ■ - C_{33} ; punom linijom su uokvirene populacije *S. subspicata*, isprekidanom linijom su uokvirene populacije *S. kitaibelii*.

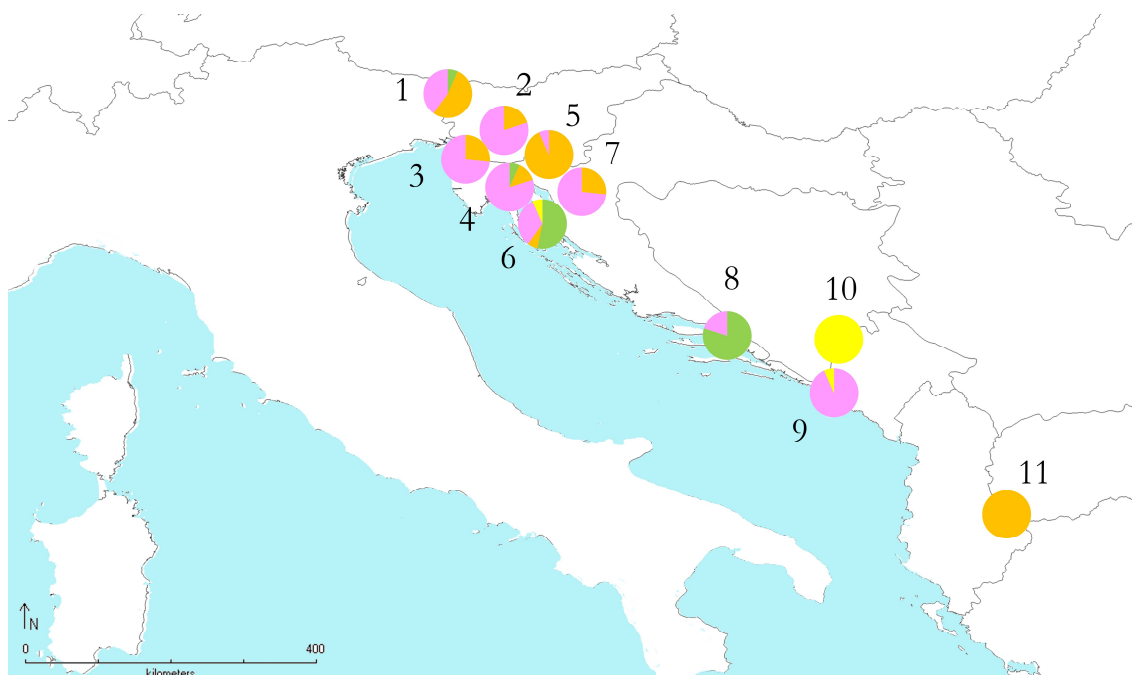
5.4 Terpeni

5.4.1 *Satureja montana*

U etarskom ulju izolovanom iz nadzemnog dela *S. montana* je detektovano 120 jedinjenja. Monoterpeni su dominantna grupa u sastavu etarskog ulja i činili su do 86,9% sastava. Tri monoterpena su bila dominantno zastupljena *p*-cimen, karvakrol i timol, izuzetak je populacija Gacko gde je dominantna komponenta linalol. Najzastupljeniji monoterpen je karvakrol, koji je bio prisutan u pet od 11 populacija (sa udelom od 35,2% do 45,8%), zatim je u tri to bio *p*-cimen (29,3%-50,2%), a u svega dve je bio timol (25,4%-29,3%).

Na osnovu dominantnih komponenti u sastavu etarskog ulja se mogu grupisati populacije. Uočeno grupisanje populacija nije prema pripadnosti podvrsti već je prema geografskom položaju. Populacije koje rastu bliže moru u profilu imaju dominantne komponente karvakrol, timol (fenolna), dok one koje rastu dublje u kontinentalu imaju *p*-cimen, linalol i kariofilen oksida (nefenolna jedinjenja).

Analize sa podvrstama su pokazala da su sličnije ssp. *montana* i ssp. *variegata* na sva tri tipa distanci, što nije iznenađujuće jer većina populacija ovih podvrsta žive u primorskom delu. Prema dominantnoj komponenti možemo razlikovati tri (karvakrolni, *p*-cimenski i timolni) dok na osnovu kladograma razlikujemo četiri hemotipa (linalolni, timolni, karvakrolni i *p*-cimenski) koji su različito zastupljeni u populacijama. Zanimljivo je da se timolski hemotip (gde je timol deo istog biosintetskog puta kao karvakrol i *p*-cimen) dosta razlikuje od prethodna dva, kada se posmatraju tri hemotipa. U slučaju četiri hemotipa najviše se izdvaja linalolni u odnosu na ostala tri. Najveći broj jedinki iz različitih primorskih populacija se smešta u karvakrolnu kladu.



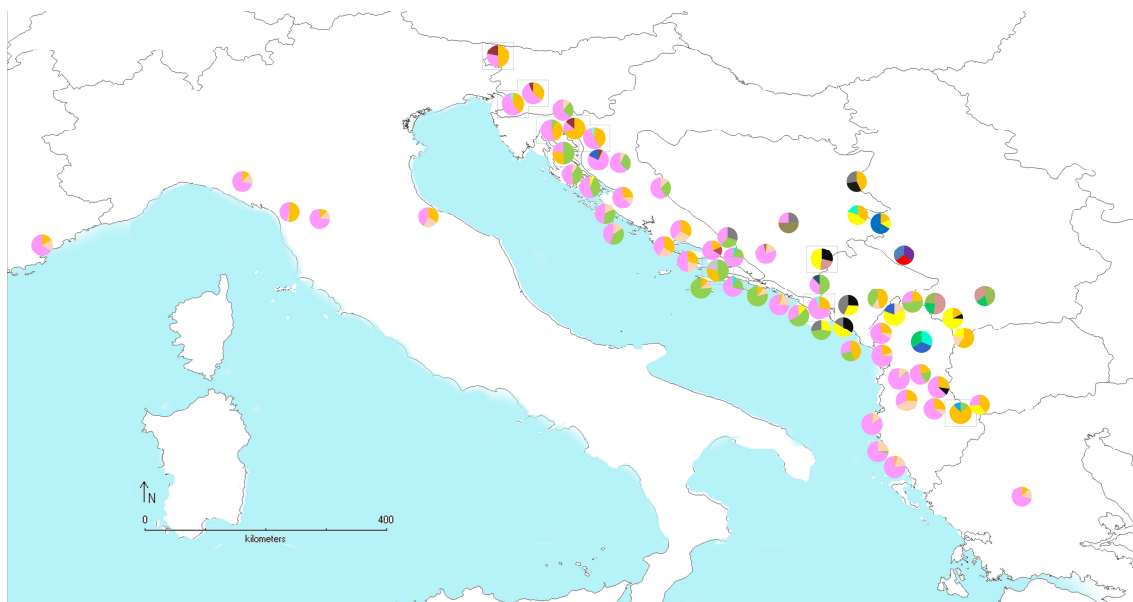
Slika 5.4.1.1. Distribucija četiri hemotipa kod proučavanih populacija *S. montana*
 ■ - karvakrol, ■ - timol, ■ - *p*-cimen, ■ - linalol; 1-Bovec; 2-Crni vrh; 3-Divača; 4-Jadranovo; 5-Zlobin; 6-Krk; 7-Sibinj; 8-Makarska; 9-Mokrine; 10-Gacko; 11-Galičica

Dobijeni rezultati (Slika 5.4.1.1) pokazuju da u sastavu etarskog ulja kod *S. montana* postoji velika varijabilnost širom areala, što je u skladu sa literaturnim podacima (Tabela 5.4.1.1 i Slika 5.4.1.2). Dominantne komponente variraju u zavisnosti od regiona. Karvakrol kao dominantna komponenta je pronađena u sastavu kod 60% etarskih ulja izolovanih iz prirodnih populacija *S. montana*, uključujući sve tri podvrste, mada većina autora nije navodila podvrstu. Etarska ulja iz biljaka su izolovana od Francuske do Grčke, najviše ih je izolovano sa lokaliteta u Hrvatskoj (21), zatim Albaniji (16), Crnoj Gori (6), Bosni i Hercegovini (3), Srbiji (2), Makedoniji (1) i Grčkoj (1). U sastavu etarskog ulja kao dominantne su određene fenolne komponente (karvakrol, timol) kao i nefenolne (*p*-cimen, γ -terpinen, geraniol, linalol). Generalno posmatrano, na osnovu dostupne literature se može uočiti da u delovima areala koji su pod većim uticajem mediterenaske klime dominira fenolni hemotip, a kako njen uticaj slabi nefenolni hemotipovi su zastupljeniji. U regionu južne Francuske i severne Italije u uljima dominira karvakrol (Panizzi i sar. 1993; Angelini i sar. 2003; Miladi i sar. 2013), dok su na dva lokaliteta kodominanti karvakrol i *p*-cimen (Fraternali i sar. 2007; Prieto i sar. 2007). U Hrvatskoj duž obale severnog Jadrana i na Velebitu dominira takođe karvakrol ali se pojavljuje i veći udeo timola uz smanjenje *p*-cimen (Stanic i sar. 1991; Bezić i sar. 2009; Dunkić i sar. 2012), izuzetak je uzorak sa

Velebita u kome pored karvakrola dominira (*E*)-kariofilen, (Stanic i sar. 1991). U centralnom delu Hrvatske obale i Dalmaciji opet dominira karvakrolni tip sa većim udelom *p*-cimenena kod nekih uzoraka ili timola kod drugih ili pak *γ*-terpinena kod trećih (Stanic i sar. 1991; Milos i sar. 2001; Bezić i sar. 2005; Dunkić i sar. 2010; 2012; Marin i sar. 2012; Ćavar i sar. 2013). U ovom regionu takođe, javlja se i timol kao dominantna komponenta (Stanic i sar. 1991; Radonic i sar. 2003; Dunkić i sar. 2012). Sastav etarskog ulja pet populacija (Jadranovo, Zlobin, Krk, Sibirj, Makarska) uzorkovanih sa prostora Hrvatske se uklapaju u opšti profil koji pokazuje literatura, a to je da su neke populacije bogate karvakrolom, neke timolom a neke *p*-cimenom. U Crnoj Gori se javlja *p*-cimen (Damjanovic-Vratnica i sar. 2011; Mihajilov-Krstev i sar. 2014; Hajdari i sar. 2016) ili njegov derivat *p*-cimen-7-ol (Mihajilov-Krstev i sar. 2014) kao dominantna komponenta, pored njih u sastavu etarskog ulja kod nekih dominira timol a kod drugih linalol (Mihajilov-Krstev i sar. 2014). Dalje, duž južne obale Jadrana i albanske obale ponovo dominira karvakrol sa većim udelom *γ*-terpinena (Ibraliu i sar. 2011^a) ili *p*-cimenena (Ibraliu i sar. 2011^a, Ibraliu i sar. 2011^b) u sastavu etarskog ulja. Dalje od obale u Albaniji javlja se timol kao najzastupljenija komponenta, dok su jedinjenja karvakrol i *p*-cimen zastupljena u manjoj meri (Ibraliu i sar. 2011^b; Hajdari i sar. 2016). U ovom regionu se takođe, javlja kao dominantna komponenta etarskog ulja kod jednog uzorka linalol a kod drugog (*E*)-kariofilen (Ibraliu i sar. 2011^b; Hajdari i sar. 2016). U Makedoniji u ulju *S. montana* ssp. *pisidica* su skoro podjednako zastupljeni *p*-cimen i linalol (Slavkovska i sar. 2001), međutim, kod naših uzoraka sa bliskog lokaliteta pored *p*-cimenena, koji ima najveći udeo u sastavu etarskog ulja, javljaju se sa mnogo manjim udelom, skoro podjednakim, timol i kariofilen oksid. U Grčkoj je dominantna komponenta karvakrol (Michaelakis i sar. 2007). Srbija sa Kosovom se odlikuje većim udelom nefenolnih komponenti, linalola (Slavkovska i sar. 2001; Hajdari i sar. 2016), mircena (Hajdari i sar. 2016), (*E*)-kariofilena (Pavlovic i sar. 1987) i *p*-cimenena (Hajdari i sar. 2016). Uzorak sa obale reke Lim kod koje su kodominantne *α*-pinen (23,6%), geranial (23,0%) i limonen(19,1%) (Pavlović i sar. 1986). U našim uzorcima *α*-pinen je bio glavna komponenta etarskog ulja kod vrste *S. subspicata*. Slična situacija je i u Bosni i Hercegovini gde dominiraju nefenolne komponente, geraniol (Ćavar i sar. 2008), *p*-cimen (Slavkovska i sar. 2001) i kod jednog uzorka fenolno jedinjenje timol (Ćavar i sar. 2008). Rezultati pokazuju da u sastavu etarskog ulja kod populacije Gacko koja je uzorkovana u Bosni i Hercegovini dominira linalol.

U ovom radu su prvi put istraživane populacije *S. montana* ssp. *variegata* koje žive u Sloveniji. Profili njihovih etarskih ulja pokazuju da dominira karvakrol i *p*-cimen.

Uočeni raspored dominantnih komponenti, ako se posmatraju kao fenolne ili nefenolne, donekle odražavaju geografsku distribuciju. Populacije koje žive bliže moru, gde je suvlje i toplije su bogatije etarskim uljima kojima dominiraju fenolne komponente, a one koje žive na lokalitetima koji su dublje u kontinentu gde su vlažniji uslovi a temperature niže imaju nefenolna jedinjenja. Sličan raspored hemotipova je uočen i kod vrsta roda *Thymus* iz Francuske (Thompson, 2005) i kod *Satureja borvatii* (Lakušić i sar. 2011). Što nije iznenađujuće ako se zna da topliji i suvlji uslovi podstiču sintezu fenolnih jedinjenja kao što su timol i karvakrol (Naghdi Badi i sar. 2017).



Slika 5.4.1.2. Distribucija dominantnih komponenti etarskog ulja listova prirodnih populacija *S. montana* u Evropi (dostupnih iz literature) (cf. Tabela 5.4.1.1) i proučavane populacije (uokvireni krugovi).

■ -karvakrol; ■ -timol; ■ -*p*-cimen; ■ -linalol; ■ - γ -terpinen; ■ -(*E*)-kariofilen;
 ■ -germakren D; ■ -borneol; ■ -limonen; ■ -*cis*-sabinen hidrat; ■ -karvakrol metil etar;
 ■ -mircen; ■ -bornil acetat; ■ - α -pinen; ■ -geranial; ■ -viridiflorol; ■ -druge komponente (*p*-cimen-7-ol, *p*-cimen-8-ol, terpinen-4-ol)

Tabela 5.4.1.1. Pregled literaturnih podataka o dominantnim komponentama etarskog ulja *S. montana*

Lokalitet	Glavne komponente	Referenca
FR	karvakrol (53.35%), γ -terpinen (13.54%), <i>p</i> -cimen (13.03%)	Miladi i sar. 2013
Italija	<i>p</i> -cimen (41.4%), karvakrol (37%), γ -terpinen (3%)	Prieto i sar. 2007
	karvakrol (56.82%), γ -terpinen (10.03%), <i>p</i> -cimen (9.83%)	Panizzi i sar. 1993
	karvakrol (56.8%), γ -terpinen (13.2%), <i>p</i> -cimen (9.7%)	Angelini i sar. 2003
	karvakrol (18%), <i>p</i> -cimen (14.3%), timol (9.92%)	Fraternale i sar. 2007
Hrvatska	karvakrol (19.4%), timol (16.6%), γ -terpinen (6.9%)	Bezić i sar. 2009
	karvakrol (31%), timol (22.3%), γ -terpinen (11.6%)	Stanic i sar. 1991
	karvakrol (36.3%), timol (14.8%), γ -terpinen (6.7%)	DunkiĆ i sar. 2012
	karvakrol (31.3%), timol (25.3%), γ -terpinen (4.9%)	
	karvakrol (37.9%), timol (18.1%), γ -terpinen (4.7%)	
	karvakrol (31.5%), timol (15.3%), γ -terpinen (7.2%)	
	karvakrol (59.1%), timol (20.1%), borneol (5.3%)	Stanic i sar. 1991
	karvakrol (63.4%), timol (19.4%), borneol (4.2%)	Ćavar i sar. 2013
	karvakrol (23.6%), timol (19.4%), terpinen-4-ol (17.8%)	DunkiĆ i sar. 2012
	karvakrol (32.5%), timol (22.1%), linalol (3.8%)	DunkiĆ i sar. 2012
	karvakrol (57.4%), (<i>E</i>)-kariofilen (13.6%), bornyl acetate (4.9%)	Stanic i sar. 1991
	timol (56.9%), γ -terpinen (9.1%), <i>p</i> -cimen (8.7%)	Stanic i sar. 1991
	timol (45.2%), <i>p</i> -cimen (6.4%), γ -terpinen (5.9%)	Radonic i sar. 2003
	timol (30.8%), karvakrol (18.3%), linalol (6.9%)	DunkiĆ i sar. 2012
	karvakrol (44.5%), <i>p</i> -cimen (16.9%), γ -terpinen (8.7%)	Marin i sar. 2012
	karvakrol (26.2%), <i>p</i> -cimen (15.2%), γ -terpinen (10.2%)	Milos i sar. 2001
	karvakrol (20.8%), <i>p</i> -cimen (17.8%), γ -terpinen (9.7%)	Milos i sar. 2001
	karvakrol (13.7%), <i>p</i> -cimen (11.8%), γ -terpinen (10.6%)	DunkiĆ i sar. 2010
	karvakrol (45.7%), <i>p</i> -cimen (12.6%), karvakrol metil etar (11%)	Bezić i sar. 2005
	karvakrol (57.9%), γ -terpinen (15.1%), <i>p</i> -cimen (4.1%)	Stanic i sar. 1991
	karvakrol (61.1%), γ -terpinen (14%), <i>p</i> -cimen (2.5%)	
	geraniol (22.3%), karvakrol (10.6%), terpinen-4-ol (10.3%)	Ćavar i sar. 2008
	<i>p</i> -cimen (13.3%), <i>trans</i> -sabinen hidrat (9.3%), <i>p</i> -cimen-8-ol (8.6%)	Slavkovska i sar. 2001
	timol (31.7%), karvakrol (23.3%), kariofilen oksid (7.7%)	Ćavar i sar. 2008

nastavak tabele 5.4.1.1.

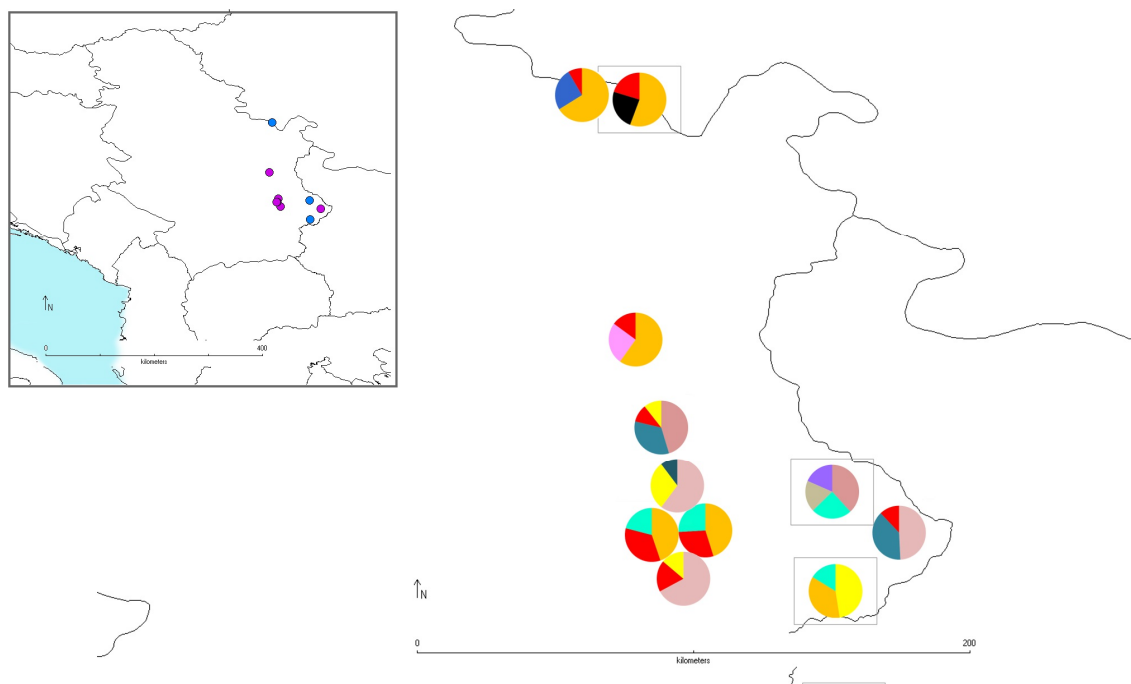
Crna Gora	timol (24.69%), linalol (15.38%), <i>p</i> -cimen-7-ol (15.19%)	Mihajilov-Krstev i sar. 2014
	<i>p</i> -cimen (31.37%), timol (27.68%), γ -terpinen (8.66%)	Damjanovic-Vratnica i sar. 2011
	<i>p</i> -cimen (26.14%), karvakrol (17.92%), timol (14.97%)	Hajdari i sar. 2016
	<i>p</i> -cimen-7-ol (24.46%), linalol (17.94%), <i>cis</i> -sabinen hidrat (14.61%)	Mihajilov-Krstev i sar. 2014
	α -pinen (23.6%), geranial (23%), limonen (19.1%)	Pavlovic i sar. 1987
	linalol (32.58%), <i>cis</i> -sabinen hidrat (23.05%), terpinen-4-ol (10.99%)	Mihajilov-Krstev i sar. 2014
Srbija	linalol (22.8%), <i>p</i> -cimen (18.8%), borneol (10.6%)	Slavkovska i sar. 2001
	(<i>E</i>)-kariofilen (50.4%), <i>p</i> -cimen (14%), linalol (11.2%)	Pavlovic i sar. 1987
	mircen (17.36%), viridiflorol (13.66%), germakren D (7.44%)	Hajdari i sar. 2016
	mircen (21.09%), viridiflorol (9.56%), germakren D (9.38%)	Hajdari i sar. 2016
	<i>p</i> -cimen (29.58%), linalol (11.2%), γ -terpinen (8.65%)	Hajdari i sar. 2016
	linalol (50.42%), <i>p</i> -cimen (12.16%), <i>cis</i> -sabinen hidrat (5.27%)	Hajdari i sar. 2016
Albanija	karvakrol (61.9%), γ -terpinen (9.3%), <i>p</i> -cimen (1.3%)	Ibraliu i sar. 2011 ^a
	karvakrol (54%), γ -terpinen (13.1%), <i>p</i> -cimen (2.9%)	Ibraliu i sar. 2011 ^a
	karvakrol (39.8%), γ -terpinen (13.8%), timol (2.2%)	Ibraliu i sar. 2011 ^a
	karvakrol (56.8%), γ -terpinen (9.2%), timol (1.5%)	Ibraliu i sar. 2011 ^a
	karvakrol (55.9%), <i>p</i> -cimen (14.8%), γ -terpinen (4.8%)	Ibraliu i sar. 2011 ^a
	karvakrol (39.5%), <i>p</i> -cimen (15.3%), γ -terpinen (4.9%)	Ibraliu i sar. 2011 ^a
	karvakrol (40.6%), <i>p</i> -cimen (17.4%), γ -terpinen (5.16%)	Ibraliu i sar. 2011 ^a
	karvakrol (37.53%), <i>p</i> -cimen (13.34%), timol (12.43%)	Ibraliu i sar. 2011 ^b
	karvakrol (40.51%), <i>p</i> -cimen (17.4%), <i>cis</i> -sabinen hidrat (6.17%)	Ibraliu i sar. 2011 ^b
	linalol (21.45%), (<i>E</i>)-kariofilen (6.65%), γ -terpinen (5.72%)	Hajdari i sar. 2016
	(<i>E</i>)-kariofilen (10.79%), germakren D (10.44%), borneol (9.64%)	Ibraliu i sar. 2011 ^b
MK	timol (27.29%), karvakrol (21.07%), <i>p</i> -cimen (16.22%)	Ibraliu i sar. 2011 ^b
	timol (31.08%), karvakrol (16.2%), <i>p</i> -cimen (13.73%)	Hajdari i sar. 2016
MK	<i>p</i> -cimen (29.3%), linalol (24%), karvakrol (18.3%)	Slavkovska i sar. 2001
GR	karvakrol (55.42%), γ -terpinen (13.24%), <i>p</i> -cimen (9.45%)	Michaelakis i sar. 2007

5.4.2. *Satureja kitaibelii*

Etarsko ulje izolovano iz nadzemnog dela *S. kitaibelii* je bilo bogato monoterpenima koji su činili od 52,1% do 84,6% ukupnog sastava etarskog ulja (detektivno je 106 jedinjenja). U profilu etarskog ulja kod ove vrste ne postoji jedinjenje ili jedinjenja, koja su zastupljena u većem procentu, već kod svake populacije postoji drugi odnos kako udela pojedinih jedinjenja tako i njihovog hemijskog sastava. U populaciji Đerdap je dominantan *p*-cimen i tri monoterpena koja imaju sličan udeo (*α*-sabinen hidrat, limonen i borneol), kod populacije Poganovo postoje dve dominantnije (linalol i *p*-cimen) i dve manje dominantne komponente (borneol i limonen), a u populaciji Temšica je šest glavnih jedinjenja sa sličnim udelom manjim od 12% (geraniol, borneol, *β*-bourbonen, spatulenol, *p*-cimen i limonen).

Postoji diferencijacija populacija na osnovu sastava etarskog ulja. *γ*-Terpinen odvaja populaciju Đerdap, linalol populaciju Poganovo, a mnogo manje količine svih glavnih komponenti i nešto veće prisustvo germakrena D odvaja populaciju Temšica.

Postoji mnogo manji broj dostupnih literaturnih podataka za sastav etarskog ulja kod vrste *S. kitaibelii* nego kod prethodne vrste (Tabela 5.4.2.1). Jedan od razloga je i njena uska geografska distribucija duž klisura Balkanskog masiva. U profilima etarskog ulja dominiraju geraniol, koji je glavna komponenta u 44% dostupnih ulja (Pavlovic i sar. 1987; Ševarda i sar. 1989; Đorđević i sar. 2014), zatim sledi *p*-cimen, 33%, (Pavlovic i sar. 1987; Ševarda i sar. 1989; Chalchat i sar. 1999; Slavkovska i sar. 2001) i najmanje zastupljen limonen sa 22%, (Konakchiev i Tsankova, 2002; Mihajilov-Krstev, 2009) kao glavna komponenta. Sastav etarskog ulja kod proučavanih populacija se uklapa u opštu distribuciju koju pokazuje literatura (Slika 5.4.2.1). Međutim, naši uzoci su bili bogati i *γ*-terpinenom i *β*-burbonenom, koji do sada nisu pomenuti u literaturi. Slavkovska i sar. (2001) su u populaciji koja živi u Jelašničkoj klisuri pronašli da je kod 63% jedinki dominantan *p*-cimen, kod 27% limonen a kod svega 10% *trans*-sabinen hidrat. Distribucija glavnih komponenti duž areala pokazuje da od severa ka jugu raste udeo limonena i linalola, a da geraniol i *p*-cimen alterniraju, posebno u centralnom delu Balkanskog masiva. Specifičnost mikrostaništa i izolovanost od drugih populacija i vrsta kod ove vrste mogli su da utiču na sastav etarskih ulja.



Slika 5.4.2.1. Distribucija dominantnih komponenti etarskog ulja prirodnih populacija *S. kitaibelii* (onih dostupnih iz literature) (cf. Tabela 5.4.2.1) i proučavanih populacija (uokvireni krugovi).

■ -*p*-cimen; ■ -geraniol; ■ -linalol; ■ -limonen; ■ -borneol; ■ -germakren D; ■ -karvakrol; ■ -(*E*)-kariofilen; ■ -geranil acetat; ■ -kariofilen oksid

Tabela 5.4.2.1. Pregled literaturnih podataka o dominantnim komponentama etarskog ulja listova *S. kitaibelii*

Lokalitet	Glavne komponente	Referenca
Srbija	<i>p</i> -cimen (47%), (<i>E</i>)-kariofilen (18%), limonen (6%)	Pavlovic i sar. 1987
	<i>p</i> -cimen (33.6%), karvakrol (14.1%), limonen (8.4%)	Chalchat i sar. 1999
	<i>p</i> -cimen (20.9%), limonen (16%), borneol (9.8%)	Slavkovska i sar. 2001
	limonen (15.54%), <i>p</i> -cimen (9.99%), borneol (8.91%)	Mihajilov-Krstev, 2009
	geraniol (24%), geranil acetat (18.8%), limonen (5.9%)	Đorđević i sar. 2014
	geraniol (34%), geranil acetat (25%), limonen i linalol (8%)	Đorđević i sar. 2014
	geraniol (28.1%), limonen (7.9%), linalol (5.8%)	Đorđević i sar. 2014
	geraniol (30.3%), linalol (14.8%), kariofilen oksid (5.2%)	Pavlovic i sar. 1987
BG	limonen (15.7%), <i>p</i> -cimen (13.1%), germakren D (8.1%)	Konakchiev i Tsankova, 2002

5.4.3. *Satureja subspicata*

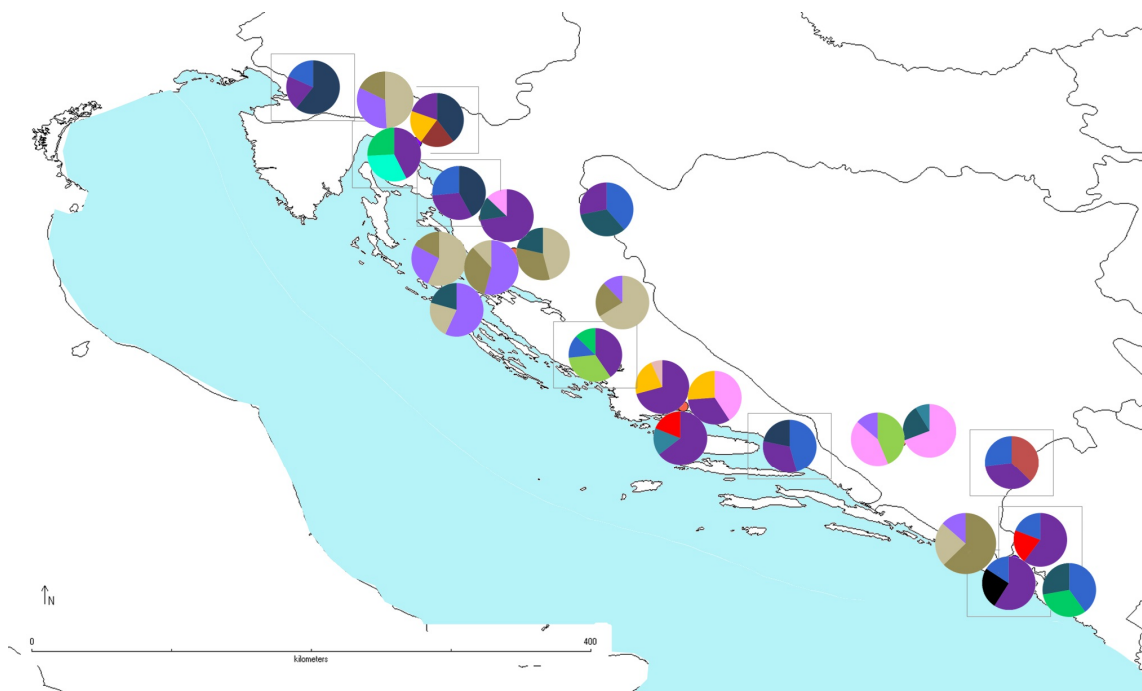
U etarskom ulju izolovanom iz nadzemnog dela *S. subspicata* detektovano je 154 jedinjenja, što je ujedno i najveći broj kako detektovanih tako i identifikovanih jedinjenja u odnosu na druge dve proučavane vrste. Dominantna grupa jedinjenja su seskviterpeni, i to seskviterpenski ugljovodonici, samo su kod dve populacije prisutni u većem procentu oksigenisani seskviterpeni (Divača i Zlobin). U profilima etarskog ulja kod svih populacija bar jedna od glavnih komponenti su dva seskviterpena i jedan monoterpen: (*E*)-kariofilen, kariofilen oksid i *α*-pinen. Takođe, odlika profila etarskog ulja kod ove vrste je slična kao i kod prethodne (*S. kitaibelii*), a to je da nema komponente čiji udeo prelazi 50% sastava već se kreće najviše do 31% i postoji veći broj komponenti sa sličnim udelom. Drugim rečima sastav etarskog ulja je evolutivno izvedeniji u odnosu na onaj kod vrste *S. montana*.

Rezultati pokazuju odvajanje podvrsta i nešto slabije odvajanje populacija. Izuzetak je populacija Đevrske koja se grupiše sa populacijama podvrste *subspicata*, kao i na svim prethodnim karakteristikama, počevši od morfometrijskih. U sastavu etarskog ulja kod ove populacije dominira viridiflorol, jedinjenje koje nije prisutno kod ostalih populacija *S. subspicata*. Ova komponenta je odvađa od ostalih populacija ssp. *liburnica* i grupiše, prividno, bliže populacijama tipske podvrste od kojih se razlikuje upravo na osnovu pomenute komponente.

Iako je pokazano da postoji odvajanje podvrsta, koje su rasprostranjene geografski, nije uočena statistički značajana korelacija sa geografskim regionom. Međutim, kada se uklone populacije koje imaju mali broj jedinki (Velebit, Biokovo i Gacko), dobija se statistički značajna korelacija ($R=0,76$; $P<0,05$).

Pregled dostupne literature pokazuje da u etarskom ulju *S. subspicata* dominiraju oksigenisani seskviterpeni, ali su i dalje dominantne komponente sa relativno malim udelom do 30%, posebno kod populacije ssp. *liburnica* (Tabela 5.4.3.1 i Slika 5.4.3.1). Glavne komponente u sastavu etarskog ulja kod pomenute podvrste su bile α -eudezmol, β -eudezmol i spatulenol (DunkiĆ i sar. 2007; 2012). Međutim, kod naših populacija uzorkovani sa bliskih lokaliteta dominira kariofilen oksid koji je pronađen kao dominantna komponenta u profilu etarskog ulja kod jedinki koje žive dublje u kontinentu u Bosni i Hercegovini (Bektašević i sar. 2017). U zoni preklapanja dve podvrste, a posebno kod podvrste *subspicata*, dominira monoterpen *α*-pinen (Skočibušić i sar. 2006; Dunkić i sar.

2007; 2012; Bezić i sar. 2009), što je u skladu i sa dobijenim rezultatima. Vrste koje rastu dublje u kontinentu u Bosni i Hercegovini odlikuju se dominacijom monoterpena karvakrola i timola, (Gasic i Palic, 1983, Ćavar i sar. 2008), komponente koje su mnogo zastupljenije u profilu etarskog ulja kod vrste *S. montana*. U Crnoj Gori bliže obali Jadrana dominiraju seskviterpensi ugljovodonici (*E*)-kariofilen, gremakren D i biciklogermakren. (Mihajilov-Krstev, 2009).



Slika 5.4.3.1. Distribucija dominantnih komponenti etarskog ulja u prirodnim populacijama *S. subspicata* (iz dostupne literature) (cf. Tabela 5.4.3.1) i proučavanih populacija (uokvireni krugovi).

■ α -eudezmol; ■ β -eudezmol; ■ spatulenol; ■ kariofilen oksid; ■ α -pinen; ■ *p*-cimen; ■ viridiflorol; ■ limonen; ■ borneol; ■ germakren D; ■ karvakrol; ■ (*E*)-kariofilen; ■ nepoznato 7; ■ γ -murolen; ■ timol; ■ karvakrol metil etar

Tabela 5.4.3.1. Pregled literaturnih podataka o dominantnim komponentama etarskog ulja listova *S. subspicata*

Lokalitet	Glavne komponente	Referenca
Hrvatska	<i>α</i> -eudezmol (18.4%), spatulenol (12.3%), <i>β</i> -eudezmol (6.7%)	DunkiĆ i sar. 2012
	<i>α</i> -eudezmol (25.8%), spatulenol (11.9%), <i>β</i> -eudezmol (7.8%)	DunkiĆ i sar. 2012
	<i>α</i> -eudezmol (29.3%), <i>β</i> -eudezmol (9.5%), spatulenol (5.4%)	DunkiĆ i sar. 2012
	<i>α</i> -eudezmol (20.2%), <i>β</i> -eudezmol (14.3%), linalol oksid (9.5%)	DunkiĆ i sar. 2012
	spatulenol (21.8%), <i>α</i> -eudezmol (8.6%), alo-ocimen (7.9%)	DunkiĆ i sar. 2012
	spatulenol (19.6%), <i>β</i> -eudezmol (12.3%), <i>α</i> -eudezmol (4.3%)	DunkiĆ i sar. 2012
	<i>β</i> -eudezmol (26.3%), <i>α</i> -eudezmol (9.9%), spatulenol (5.7%)	DunkiĆ i sar. 2007
	<i>α</i> -pinen (42.6%), ocimen<(E)-beta-> (8.5%), karvakrol (7.6%)	DunkiĆ i sar. 2012
	<i>α</i> -pinen (24.2%), <i>α</i> -terpinen (6.2%), limonen (7.1%)	Bezić i sar. 2009
	<i>α</i> -pinen (52.9%), <i>p</i> -cimen (16.7%), <i>γ</i> -terpinen (5.1%)	DunkiĆ i sar. 2007
	karvakrol (16.8%), <i>α</i> -pinen (13.6%), <i>p</i> -cimen (10.8%)	Skočibušić i sar. 2006
BiH	karvakrol (58.1%), terpinen-4-ol (18.5%), <i>α</i> -terpineol (7.3%)	Gasić i Palić, 1983
	timol (28.6%), karvakrol (27.9%), spatulenol (9%)	Ćavar i sar. 2008
	(E)-kariofilen (14%), cis- <i>β</i> -ocimen (12.1%), <i>α</i> -pinen (10.2%)	Bektašević i sar. 2017
MNG	(E)-kariofilen (11.9%), germakren D (9.6%), biciklogermakren (8.3%)	Mihajilov-Krstev, 2009

5.4.4. Usporedna analiza sastava etarskih ulja kod proučavanih takosna

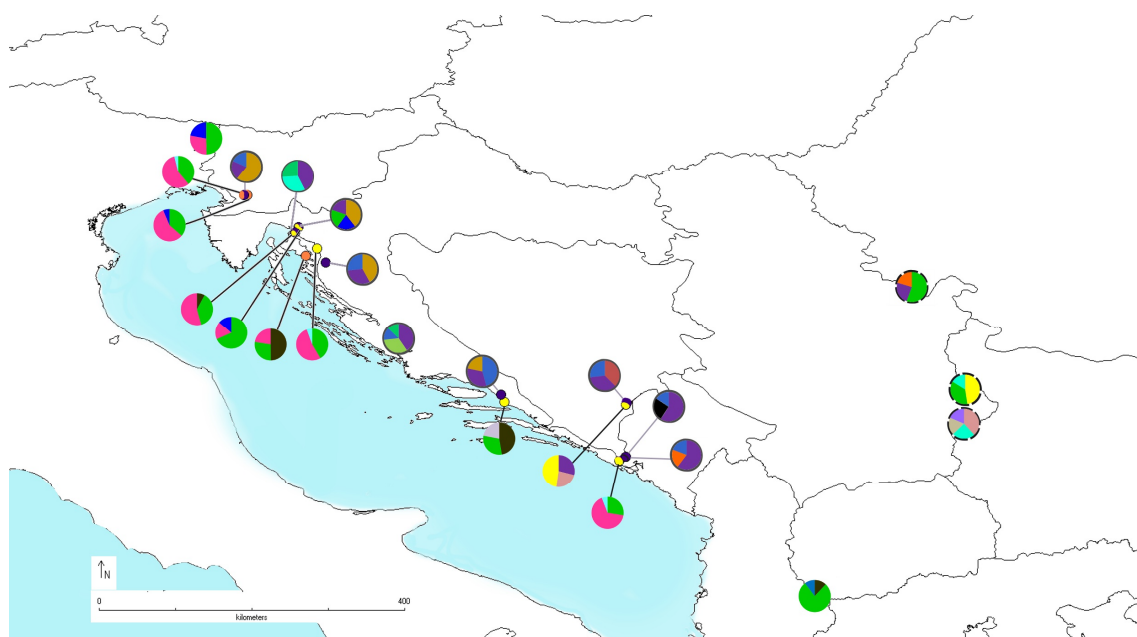
Profil etarskih ulja pokazuju dominaciju različitih tipova jedinjenja kod svih proučavanih taksona. U profilu etarskog ulja vrsta *S. montana* i *S. kitaibelii* dominiraju monoterpeni, posebno oksigenisani, uz povećanje udela seskviterpena kod *S. kitaibelii*, dok kod *S. subspicata* dominiraju seskviterpenski i monoterpenski ugljovodonici.

Univarijantne analize su pokazale da se vrste mogu odvojiti na osnovu sastava etarskog ulja. Populacije *S. montana* imaju dve dominantne komponente (*p*-cimen i karvakrol) u sastavu etarskog ulja, *S. kitaibelii* jednu komponentu (*p*-cimen), a profil *S. subspicata* se odlikuje većim brojem komponenti sa manjim udelom. Klaster analize vrsta su pokazale da su na osnovu ukupne varijabilnosti sastava etarskog ulja sličnije vrste *S. montana* i *S. kitaibelii* a u slučaju glavnih komponenti su sličnije *S. kitaibelii* i *S. subspicata*. Ovi rezultati pokazuju da se etarska ulja vrsta koje rastu na staništima koja su dublje u kontinentu gde je uticaj mediteranske klime slabiji odlikuju većim udelom nefenolnih komponenti (Slika 5.4.4.1). Najviše se odvajaju podvrste *S. subspicata*, zatim vrsta *S. kitaibelii*, dok su podvrste *S. montana* potpuno preklapljene. Preklapanje podvrsta u okviru vrste *S. montana* je očekivano jer su prethodne analize pokazale da postoji nekoliko hemotipova i da se populacije grupišu prema zastupljenosti hemotipova, a ne prema pripadnosti podvrsti.

Radi odgovora na pitanje da li je veći uticaj ekoloških ili genetičkih faktora na sastav terpena, urađene su univarijante (ANOVA) i multivarijante analize (HCA, PCA i DA) simpatrijskih populacija, tj. populacija koje žive u istim ekološkim uslovima. Simpatrijske populacije su pronađene kod vrsta *S. montana* i *S. subspicata*. Sve analize su pokazale da se razlikuju profili etarskog ulja kod posmatranih vrsta. ANOVA i matriks plot pokazuju da su najrazličitije populacije na lokalitetu Gacko. Multivarijante analize pokazuju odvajanje na svim lokalitetima prema pripadnosti vrsti. Izuzetak je nekoliko jedinki vrste *S. subspicata* sa lokaliteta Zlobin koje se grupišu sa jedinkama vrste *S. montana* zbog većeg udela *p*-cimen u sastavu etarskog ulja. Ovi rezultati pokazuju da je mnogo veći uticaj genetičkih faktora na profil etarskog ulja od ekoloških.

Pregled literature pokazuje da postoji nekoliko hemotipova (α -eudezmol, β -eudezmol i spatulenol) (DunkiĆ i sar. 2012) ili jedan α -pinenski (Bezić i sar. 2009) i kod vrste *S. subspicata*. Međutim, kod vrste *S. montana* do sada nisu uočeni hemotipovi već samo da postoji velika varijabilnost u sastavu etarskog ulja i to fenolnih komponenti, karvakrola i

timola i njihovih prekursora *p*-cimen i γ -terpinena (Ćavar i sar. 2013, Dunkić i sar. 2012, Bezić i sar. 2009). Rad koji se bavio revizijom specijalizovanih metabolita prisutnih u rodu *Satureja* je pokazao da se po dominantnim komponentama etarskog ulja sve vrste ovog roda mogu svrstati u tri opšta hemotipa (Saeidnia i sar. 2016). Prvi opšti hemotip čine aromatični *p*-mentan monoterpeni (karvakrol, timol i *p*-cimen). Drugi opšti hemotip su alifatični *p*-mentan monoterpeni (menton, izomenton, pulegon i piperiton), dok treći opšti hemotip čini nekoliko monoterpena i seskviterpena (kariofilen oksid, (*E*)-kariofilen, α -eudezmol, spatulenol, germakren D). Profili etarskih ulja u kojima dominira γ -terpinen, linalol, geraniol i limonen, kao što je slučaj sa proučavanim taksonima, nisu smešteni ni u jedan od prethodnih hemotipova. Pomenuti autori prilikom grupisanja vrsta u hemotipove nisu uzeli u obzir metodu destilacije i fenofazu koji imaju veliki uticaj na sastav etarskog ulja (Stanic i sar. 1991; Milos i sar. 2001).



Slika 5.4.4.1. Mapa distribucije glavnih komponenti etarskih ulja kod proučavanih populacija; ■- α -pinen; ■-linalol; ■-*p*-cimen; ■-limonen; ■-*cis*-sabinen hidrat; ■-borneol; ■-timol metil etar; ■-karvakrol metil etar; ■-geraniol; ■-timol; ■-karvakrol; ■- β -burbonen; ■-(*E*)-kariofilen; ■- γ -murolen; ■-germakren D; ■-spatulenol; ■-kariofilen oksid; ■-viridiflorol; ■-nepoznato 7; punom linijom su uokvirene populacije *S. subspicata*, isprekidanom linijom su uokvirene populacije *S. kitaibelii*.

5.5. Opšta diskusija

Morfologija je osnova sitematike i morfološki karakteri su prvi karakteri koji su se proučavali sa taksonomskog aspekta i na osnovu kojih su bile date prve sistematike živog sveta. Postoje različiti morfoloških karaktera koji se koriste u klasifikacijama, a ovde su obrađeni samo oni koji su na osnovu literaturnih podataka bili dovoljno informativni za odvajanje, pre svega, vrsta i podvrsta roda *Satureja* koje žive na prostoru zapadnog i centralnog Balkana. Najinformativniji karakteri su bili oni koji su vezani za čašicu kod svih taksona, dok su karakteri lista imali mnogo veću varijabilnost. Podvrste vrste *S. montana* se na osnovu ovde analiziranih karaktera slabo razlikuju. Slaba rezolucija morfometrijskih karaktera u slučaju ove vrste je verovatno posledica velikog genetičkog diverziteta koji ova vrsta ima a što može biti posledica velikog areala koji ona naseljava kao i načina oprašivanja i rasejavanja. Kod *S. kitaibelii*, pak, fragmentisanost areala i izolovanost populacija se ocrta kroz nepotpuno odvajanje populacija na osnovu morfoloških karaktera. Međutim, nije isključeno da bi se deo ove rezolucije izgubio kada bi se obradio veći broj populacija. Morfometrijski karakteri kod *S. subspicata* pokazuju odvajanje podvrsta, ali ne i populacija unutar njih.

Upotreba specijalizovanih metabolita kao hemotaksonomskih markera počinje u drugoj polovini prošlog veka, zahvaljujući razvoju metoda razdvajanja i identifikacije. Prva istraživanja su se bavila njihovom strukturom, a sredinom druge polovine istog veka naučnici su počeli da uviđaju značaj fiziološke, metaboličke i evolutivne uloge ovih specijalizovanih proizvoda metabolizma (Başer i Buchbauer, 2015).

Na osnovu fitohemijskih markera – alkana, površinskih flavonoida i etarskog ulja bilo je moguće uočiti razliku između proučavanih populacija i podvrsta i vrsta. Alkani su pokazali najslabiju rezoluciju usled malog broja karaktera. No, oni su pokazali sličan trend kao i morfološki karakteri. Kod vrste *S. montana* postoji velika varijabilnost unutar populacija, a jako mala između, tako da ne postoji diferencijacija između taksona. Kod *S. subspicata* postoji razlika između podvrsta, ali je nema između populacija, dok se populacije *S. kitaibelii* potpuno diferenciraju.

Površinski flavonoidi i etarska ulja su pokazali mnogo bolju rezoluciju. U oba seta podataka se vidi odvajanje na kontinentalne i primorske populacija kod vrste *S. montana*, pri čemu je odvajanje koje su pokazali flavonoidi mnogo jače. Flavonoidi su kod ove vrste

pokazali postojanje hemotipova koji odgovaraju grubim geografskim regionima od severa ka jugu, uz jasno odvajanje populacija koje žive dublje u kontinentu. Etarska ulja pokazuju da postoji nekoliko hemotipova prema udelu glavnih komponenti. Njihova distribucija je u grubom pravcu primorje-kontinent.

Kod vrsta roda *Thymus* koje rastu u Francuskoj kao i kod *Satureja borvatii* pokazano je da postoji razlika u distribuciji hemotipova prema tipu jedinjenja duž temperaturnog gradijenta. Blizu Mediterana, u suvim i toplim uslovima, dominira fenolni hemotip (karvakrol i timol), dok na staništima koji su dublje u kontinentu, iznad 400 m.n.v., gde je vlažnije i hladnije dominira nefenolni hemotip (geraniol, α -terpineol, linalol) (Thompson, 2005; Lakušić 2011). Sličan raspored hemotipova može da se uoči i u njihovoj distribuciji kod populacija *S. montana*. U primorskim populacijama dominiraju karvakrol i timol, a u populacijama koje su dublje u kontinentu gde je slabiji uticaj Mediteranske klime to su linalol i *p*-cimen.

Pomenuti markeri kod druge dve vrste su pokazali diferencijaciju populacija. Populacije vrste *S. kitaibelii* su imale podjednaku varijabilnost morfoloških karaktera, dok je u slučaju fitohemijskih karaktera ona bila kod nekih populacija veća a kod drugih manja u zavisnosti od proučavanog markera (flavonoida, alkana i etarskih ulja). Podvrste *S. subspicata* se jasno odvajaju prema sastavu etarskog ulja, čak se vide i razlike između populacija. Postojanje ovako velikih razlika između populacija je verovatno posledica male razmene genetičkog materijala usled orografije terena. Naime, *S. subspicata* je endemit Dinarida a *S. kitaibelii* Balkanskih planina. Obe vrste naseljavaju fragmentisana staništa što vremenom dovodi do genetičke diferencijacije populacija. No, na osnovu ovih analiza nije moguće proceniti da li su ove populacije trenutno i genetički izolovane, ili i dalje postoji protok gena između njih. Od svih istraživanih fitohemijskih karaktera, distribucija flavonoida posebno dobro odslikava različitu evolutivnu istoriju ova tri taksona, i potvrđuje ovu tvrdnju, jer je kod svih taksona pokazano da su geografski bliže populacije sličnije po profilu flavonoida.

Uticaj ekoloških (bioklimatskih) faktora na proučavane fitohemijske i morfološke karaktere je dodatno analiziran na četiri simpatrijska lokaliteta sa populacijama vrsta *S. montana* i *S. subspicata*. Utvrđene su razlike između svih parova populacija na svim karakterima. Jedino na lokalitetima Divača i Zlobin, nije došlo do potpune diferencijacije između parova populacija, na prvom lokalitetu po sastavu alkana a na drugom po sastavu

etarskog ulja. Dobijeni rezultati mogu da ukazuju na pojavu ukrštanja između ove dve vrste ili specifičnosti mikrostaništa na kome su živele jedinke koje se razlikuju od ostalih iz svoje populacije, pa su posledica slučajnosti.

Generalno gledano, razlike koje su pokazali fitohemijski i morfološki karakteri između dve podvrste *S. subspicata* pokazuju da su ova dva taksona daleko više difrencirana nego *S. montana* i *S. kitaibelii*. Jasno im se razlikuju veličine čašica, a imaju i drugačije profile etarskog ulja, flavonoida i alkana. Uočene razlike u ispitivanim populacijama mogu da budu posledica evolutivne selekcije ka onim hemotipovima koji su bolje adaptirani na staništa u kojima žive. Populacije ssp. *liburnica* su uzorkovane sa nadmorskih visina ispod 1.000 m, dok su jedinke tipske podvrste uzorkovane sa visina iznad 1.000 m, što su i njihova prirodna staništa.

Uporedna analiza svih karaktera, i morfometrijskih i fitohemijskih, sa manjim brojem jedinki za koje imamo rezultate za sve karaktere pokazala je da uočenoj diferencijaciji najviše doprinose profili etarskih ulja i flavonoida, a alkani i morfometrijski karakteri mnogo manje. Primećena razlika između analiziranih markera je posledica niske rezolucije ovih markera usled relativno malog broja proučavanih karaktera (mali broj jedinjenja kod alkana, odnosno mali broj morfoloških karaktera uz jako veliku intrapopulacionu i infraspecijsku varijabilnost). Iako kod flavonoida, takođe, ima mali broj jedinjenja, ova jedinjenja ne čine uvek biosintetski niz poput alkana, tako da se između jedinki, populacija, podvrsta i vrsta razlikuju kako u relativnim količinama pojedinih komponenti, tako i u njihovom prisustvu/odsustvu.

Dodatne populacije, kao i molekularni markeri (pre svega, izuzetno varijabilni markeri jedarnog genoma i mikrosatelitni lokusi) verovatno bi doprineli boljem uvidu u evolucionu istoriju ovih taksona.

ZAKLJUČCI

1. Morfometrijska analiza vrsta roda *Satureja* pokazala je veliku intrapopulacionu varijabilnost karaktera listova, dok su karakteri čašice znatno manje varirali. Na osnovu morfoloških karaktera najviše se razlikuje *S. subspicata* od *S. montana* i *S. kitaibelii*, pre svega, podvrsta *S. subspicata* ssp. *liburnica*, dok su druge dve dosta sličnije.
2. Proučavani karakteri, posebno oni koji se odnose na čašice, pokazali su se kao informativni na infraspecijskom i interspecijskom nivou kod *Satureja subspicata*. Kod *S. subspicata* ssp. *liburnica* izmerene su najveće dimenzije karaktera čašice po čemu se one izdvajaju od svih ostalih proučavanih taksona.
3. Prosečne vrednosti za morfološke karaktere listova kod podvrsta *S. montana* su bile najmanje kod ssp. *variegata*, a najveće kod ssp. *pisidica*, dok je obrnuta situacija za broj žlezdanih trihoma na listu. Karakteri čašice, u proseku, imaju najveće vrednosti kod podvrste *montana* a najmanje kod podvrste *pisidica*. Populacije *S. kitaibelii* pokazuju male razlike u varijabilnosti morfoloških parametara lista i čašice. Kod vrste *S. subspicata* podvrste se razlikuju na osnovu karaktera čašice i broja žlezdanih trihoma listova – veće čašice i manji broj žlezdanih trihoma na licu lista izmereni su kod podvrste *liburnica*.
4. Velika intra- i interpopulaciona varijabilnost proučavanih karaktera svedoči da kod *S. montana* ne postoji jasno odvajanje na nivou podvrsta, kao ni između populacija. Kod *S. kitaibelii* je uočena diferencijacija populacija, a kod *S. subspicata* je pokazano odvajanje podvrsta i naznake odvajanja populacija unutar njih. Populacije podvrste *S. subspicata* ssp. *liburnica* pokazuju veću varijabilnost u odnosu na populacije tipske podvrste.
5. Uočene su korelacije morfoloških karaktera i pojedinih bioklimatskih parametara, uglavnom vezanih za temperaturu i padavine. Kod *S. montana* skoro svi karakteri čašice (sem broja žlezdanih trihoma) su u umerenoj korelaciji sa bioklimatskim parametrima temperature, kod *S. kitaibelii* je samo širina čašice bila u negativnoj korelaciji sa skoro svim parametrima temperature, a u pozitivnoj sa skoro svim parametrima padavina, dok je kod *S. subspicata* pronađen najmanji broj korelacija. Takođe, kod ove vrste postoji i pozitivna korelacija između morfoloških karaktera i geografskog regiona, što nije bio slučaj kod druge dve vrste.

6. Profili površinskih flavonoida kod proučavanih vrsta su pokazali i kvalitativnu i kvantitativnu varijabilnost. Kod skoro svih proučavanih taksona izolovano je uglavnom po 10 flavonoida. U profilu *S. montana* u većini slučajeva dominiraju 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon i cirzimaritin, kod *S. kitaibelii* su to ksantomikrol i cirzimaritin, a unutar *S. subspicata* ksantomikrol (ssp. *liburnica*) i cirzimaritin, odnosno ksantomikrol i 8-metoksicirzilneol (ssp. *subspicata*).
7. Analize sastava površinskih flavonoida su pokazale da postoji manja razlika između podvrsta, a veća između populacija *S. montana*, posebno u pravcu primorje-kontinent. Dobijeno je grupisanje populacija prema geografskom regionu pre nego strogo prema pripadnosti taksonu. Izdvajaju se tri regiona Alpsko-Istarsko-severno jadranski, hercegovačko-južno jadranski i makedonski. U prvom regionu su sve populacije *S. m.* ssp. *variegata* i njima bliže, severne populacije *S. m.* ssp. *montana*, u drugom regionu su kontinentalne populacije *S. m.* ssp. *montana* i južno Jadranska populacija Makarska, a u trećem jedina analizirana populacija *S. m.* ssp. *pisidica*. Profili površinskih flavonoida kod *S. kitaibelii* pokazuju nepotpuno odvajanje između populacija. Kod *S. subspicata* pokazuju jasnu diferencijaciju između populacija, kao i podvrsta. Samo jedna analiza je pokazala nepotpuno odvajanje podvrsta zbog populacije *S. s.* ssp. *liburnica* koja raste u zoni preklapanja areala podvrsta *S. subspicata*, a analiza morfoloških karaktera je smestila veći broj individua iz te populacije u tipsku podvrstu. S obzirom da je u analizi površinskih flavonoida korišćeno svega nekoliko jedinki, moguće je da su izabrane one koje pripadaju tipskoj podvrsti ili, pak, jedinkama koje su nastale ukrštanjem.
8. Površinski flavonoidi, analizirani na celom setu podataka, pokazuju diferencijaciju između vrsta, uključujući i podvrste. Najviše se odvaja tipska podvrsta *S. subspicata* od svih ostalih taksona. Kontinentalne populacije *S. montana* ssp. *montana* preklapaju se sa populacijama *S. kitaibelii* sa jedne, dok se primorske preklapaju sa populacijama *S. montana* ssp. *variegata*, sa druge strane. Populacije *S. subspicata* ssp. *liburnica* se nalaze između ove dve strane. Sastav površinskih flavonoida je u korelaciji sa geografskom distribucijom populacija, visokoj kod *S. subspicata* i *S. kitaibelii*, a slaboj kod *S. montana*.
9. U sastavu epikutikularnih voskova kod ispitivanih vrsta učestvuje 17 alkana u nizu od C₁₉ do C₃₅. Profili između vrsta se razlikuju po količinama glavnih kopomonti. *S. montana* ima dva dominantna alkana – nonakozan i hentriakontan, dok je prateći bio tritriakontan. Kod *S. kitaibelii* postoji jedan dominantan – hentriakontan, a zatim slede

nonakozan i tritriakontan, dok su kod *S. subspicata* samo dva dominantna alkana i to nonakozan i hentriakontan.

10. Alkani su pokazali nepotpuno odvajanje podvrsta kod *S. montana* zbog velike varijabilnosti populacija unutar vrste. Međutim, na osnovu sastava površinskih alkana kod *S. kitaibelii* se mogu diferencirati populacije a kod *S. subspicata* i podvrste. Podvrsta *liburnica* ima alkane dužeg niza, od tipske. Izuzetak su populacije Velebit kod prve, i Crkvice kod druge podvrste. Profili alkana kod ove vrste su pokazali jaku korelaciju sa ekspozicijom. Pomenute dve populacije su sa istočne, dok su ostale sa zapadne ekspozicije. Uočena je i slaba korelacija sa nadmorskom visinom. Naime, populacije *S. s. ssp. liburnica* su uzorkovane ispod 1.000 m.n.v., dok su populacije *S. s. ssp. subspicata* uzorkovane sa većih nadmorskih visina. Najviše su diferencirane vrste *S. kitaibelii* i *S. subspicata*, posebno podvrsta *S. subspicata ssp. subspicata*. *S. montana* pokazuje veliku varijabilnost sastava površinskih alkana koja prilikom poređenja profila između taksona pokriva varijabilnost ostalih.
11. Kod *S. montana* je utvrđena korelacija dva alkana (C_{31} i C_{34}) sa bioklimatskim podacima, pre svega, temperaturom. Kod *S. kitaibelii* je više bioklimatskih parametara, kao i nadmorska visina, statistički značajno korelisano sa većim brojem alkana. Korelacija sa nadmorskom visinom pokazuje da što je veća nadmorska visina to su duži alkani. Uočena je blaga korelacija između dominantnih alkana kod *S. subspicata* i nadmorske visine i visoka korelacija sa ekspozicijom. Takođe, kod ove vrste je pokazana i visoka korelacija sa geografskim regionom, što nije slučaj kod druge dve vrste. Rezultati su pokazali veliku varijabilnost unutar populacija kod prve vrste, kod druge su verovatno posledica malog broja proučavanih populacija, a kod treće različite geografske distribucije profila alkana.
12. U etarskom ulju proučavanih vrsta je detektovano, u zavisnosti od vrste, od 119 (*S. kitaibelii*) do 154 jedinjenja (*S. subspicata*). Monoterpeni su dominantna grupa kod *S. montana* i *S. kitaibelii*, dok se *S. subspicata* najviše razlikuje usled velike zastupljenosti seskviterpena u etarskom ulju većine populacija.
13. U etarskom ulju *S. montana* su tri monoterpena (*p*-cimen, karvakrol i timol) dominantno zastupljena, uz izuzetak populacije Gacko, gde je dominantna komponenta bila linalol. Varijabilnost sastava etarskog ulja pokazuje postojanje do 4 hemotipa koji nisu vezani

- za pripadnost ni populaciji ni podvrsti, već za geografsku distribuciju u smeru primorske-kontinentalne populacije. Najviše jedinki pripada karvakrolnom tipu, upola manje *p*-cimenskom i najmanje timolnom i linalolnom.
14. Iako u sastavu etarskog ulja kod *S. kitaibelii* dominiraju monoterpeni, postoji jasna diferencijacija populacija unutar vrste. Limonen je prisutan kod skoro svih proučavanih uzoraka, pri čemu je kod nekih jedinki ili populacija dominantniji, a kod drugih predstavlja jednu od komponenti sa nešto većim udelom u procentualnom sastavu.
 15. Dominantna grupa jedinjenja u etarskom ulju vrste *S. subspicata* su seskviterpensi ugljovodonici, a samo su kod dve populacije (Divača i Zlobin) podvrste *liburnica* oksigenisani seskviterpeni prisutni u većem procentu. U profilima etarskog ulja kod svih populacija bar jedna od glavnih komponenti je bila (*E*)-kariofilen, kariofilen oksid ili *α*-pinen. Na osnovu 27 komponenti etarskih ulja podvrste i populacije *S. subspicata* se jasno razdvajaju, gde se najviše odvaja populacija Gacko. Populacija iz zone preklapanja arela dve podvrste (Đevrske) najviše se odvaja od svih ostalih iz podvrste *liburnica*, što je u saglasnosti sa morfološkim analizama. Pomenute populacije se najviše i razlikuju od ostalih populacija po dominantnim komponentama.
 16. Na osnovu profila etarskog ulja uočljive su razlike između vrsta. Najviše se međusobno razdvaju *S. montana* i *S. subspicata*. Takođe, uočena je korelacija varijabilnosti sastava etarskog ulja sa distribucijom vrsta. Vrste sa jako fragmentisanim arealom (*S. kitaibelii* sa centralnog) i umereno fragmentisanim arealom (*S. subspicata* sa zapadnog Balkana), pokazuju mnogo manju varijabilnost sastava etarskog ulja u okviru populacija nego što je to slučaj sa vrstom *S. montana*, koja ima gotovo kontinuirani areal. Ova osobina se ponavlja kod svih ispitivanih fitohemijskih, kao i morfoloških karaktera.
 17. Uticaj genetičkih faktora, kako na sastav flavonoida, alkana i etarskih ulja, tako i na morfološke karaktere, potvrđen je analizama populacija koje žive simpatrijski, tj. populacija koje su izložene istim ekološkim uslovima. Generalno, na osnovu svih ispitivanih morfoloških, ali i fitohemijskih karaktera, jasno se diferenciraju *S. montana* i *S. subspicata*.
 18. Sastavi površinskih flavonoida i etarskih ulja, iako pokazuju izuzetno veliku varijabilnost, imaju veću rezoluciju od alkana ili odabranih morfoloških karaktera za odvajanje proučavanih taksona na svim ispitivanim nivoima (interspecijskom i

interpopulacionom). Alkani su se pokazali kao dobri karakteri za diferencijaciju vrsta, međutim, mora se voditi računa o ekspoziciji i fenofazi ispitivanih individua.

19. Ispitani morfološki i fitohemijski karakteri veoma dobro odslikavaju evolutivnu istoriju i genetičku varijabilnost sve tri proučavane vrste. Na osnovu svih ispitanih karaktera, vrste *S. montana* i *S. kitaibelii* su najbližije, no, pored samih razlika u rezultatima proučavanih karaktera i geografske distribucije, uočljiva je i razlika u intra- i interpopulacionoj varijabilnosti koja odslikava kako njihovu evolutivnu istoriju tako i današnje areale. Istražene populacije *S. kitaibelii* se diferenciraju na osnovu svih karaktera, pa čak i na osnovu onih sa najmanjom rezolucijom poput alkana, dok je gotovo nemoguće razlikovati geografski bliske populacije *S. montana*. S druge strane, svi markeri su se pokazali kao veoma informativni za diferencijaciju podvrsta vrste *S. subspicata*, a neki čak i za diferencijaciju populacija, što je verovatno posledica, kako užeg areala ove vrste, tako i njene relativne fragmentisanosti duž Dinarida.
20. Najmanja diferencijacija podvrsta i populacija je uočena kod *S. montana*. Od svih ispitivanih vrsta, ova ima verovatno znatno veću genetičku varijabilnost, koja se ogleda i u velikoj varijabilnosti fenotipskih karakteristika. Pored velike varijabilnosti, ona poseduje i gotovo kontinuirani areal na Balkanskom poluostrvu, što verovatno omogućuje i stalnu razmenu genetičkog materijala između svih delova areala. Međutim, izvesna diferencijacija unutar ove vrste ipak postoji, iako je ona znatno oslabljena u odnosu na diferencijaciju kod druge dve vrste. Kada se pogleda ukupna varijabilnost svih ispitivanih karaktera kod tipske podvrste, vidimo da je ona zapravo najveća i da pokriva varijabilnost svih njenih podvrsta. Međutim, preklapanja ispitivanih fitohemijskih i morfoloških karaktera između podvrste *variegata* i podvrste *pisidica* gotovo i da nema, i svaka od podvrsta (sem tipske) pokazuje srazmerno malu varijabilnost. Sve ovo ukazuje na geografsku diferencijaciju populacija posebno podvrste *variegata* i podvrste *pisidica*, koje su geografski veoma udaljene, a da vezu između njih predstavljaju populacije tipske podvrste. Sve ovo ukazuje na to da, iako postoji protok gena između populacija, zbog načina oprašivanja dolazi do postepene diferencijacije populacija zbog geografske distance..
21. Analizirani fitohemijski i morfološki karakteri su pokazali različite stepene diferencijacije proučavanih taksona. Sastav površinskih flavonoida i etarskih ulja je najbolje pokazao razlike kod svih proučavanih vrsta, uključujući populacije i podvrste.

Alkani su bili pogodni za diferencijaciju vrsta. Odabrani morfološki karakteri, naročito oni vezani za čašicu, bili su informativniji kod vrsta *S. kitaibelii* i *S. subspicata*. Usporedne analize svih taksona su pokazale veću diferencijaciju unutar *S. subspicata* nego između *S. montana* i *S. kitaibelii*, što ukazuje na potencijalno relativno skorije odvajanje *S. kitaibelii* od *S. montana*.

22. Dobijeni rezultati ukazuju na značaj kombinovanja morfoloških i fitohemijskih parametara u cilju dobijanja jasnije slike o sveukupnoj varijabilnosti vrsta. Takođe, rezultati statističke analize zasnovane na velikom broju uzoraka jedinki, populacija, kao i analiziranih parametara svih taksona pokazuju kompleksnost procesa diferencijacije populacija unutar vrsta. Takođe, pokazano je da ne postoji jedinstveni obrazac za diferencijaciju populacija (taksona), što ukazuje da je neophodno upoznati specifičnosti svake vrste ponaosob, bez obzira što su, u ovom slučaju, u pitanju izuzetno srodne vrste. Dobijeni rezultati pokazuju da je za razumevanje varijabilnosti i diferencijacije analiziranih taksona potrebno uzeti u obzir čitav niz genetičkih, ekoloških i istorijskih faktora. Stoga se može očekivati da će rezultati daljih planiranih istraživanja, posebno sa molekularnog aspekta, omogućiti jasniji uvid i pružiti pouzdanije odgovore na pitanja filogeografije i filogenetskih odnosa unutar agregata *Satureja montana*.

7. Literatura

- Aboukhalid, K., Al Faiz, C., Douaik, A., Bakha, M., Kursa, K., Agacka-Moldoch, M., Machon, N., Tomi, F., & Lamiri, A. (2017). Influence of Environmental Factors on Essential Oil Variability in *Origanum compactum* Benth. Growing Wild in Morocco. *Chemistry & Biodiversity*. DOI:10.1002/cbdv.201700158
- Adanson, M. (1763). *Familles des plantes* (Vol. 2). Paris: chez Vincent.
- Adorjan, B., & Buchbauer, G. (2010). Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(6), 407–426. DOI:10.1002/ffj.2024
- Aghaei, K., Hadian, J., Kanani, M. R., Beyranvand, S., & Yousefzadi, M. (2014). Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Satureja macrosiphonia* Bornm., from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(1), 95–103.
- Aghaei, Y., Hossein Mirjalili, M., & Nazeri, V. (2013). Chemical diversity among the essential oils of wild populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl (Lamiaceae) from Iran. *Chemistry & Biodiversity*, 10(2), 262–273.
- Aharoni, A., Dixit, S., Jetter, R., Thoenes, E., van Arkel, G., & Pereira, A. (2004). The SHINE clade of AP2 domain transcription factors activates wax biosynthesis, alters cuticle properties, and confers drought tolerance when overexpressed in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 16(9), 2463–2480.
- Ait-Ali, T., Swain, S. M., Reid, J. B., Sun, T., & Kamiya, Y. (1997). The LS locus of pea encodes the gibberellin biosynthesis enzyme ent-kaurene synthase A. *The Plant Journal*, 11(3), 443–454.
- Ali, H. A. M., Mayes, R. W., Hector, B. L., & Orskov, E. R. (2005). Assessment of n-alkanes, long-chain fatty alcohols and long-chain fatty acids as diet composition markers: The concentrations of these compounds in rangeland species from Sudan. *Animal Feed Science and Technology*, 121(3–4), 257–271. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2005.02.026
- Alkema, J., & Seager, S. L. (1982). The chemical pigments of plants. *Journal of Chemical Education*, 59(3), 183.
- Amorati, R., Foti, M. C., & Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10835–10847. DOI:10.1021/jf403496k
- Anačkov, G., Božin, B., Zorić, L., Vukov, D., Mimica-Dukić, N., Merkulov, L., ... Boža, P. (2008). Chemical Composition of Essential Oil and Leaf Anatomy of *Salvia bertolonii* Vis. and *Salvia pratensis* L. (Sect. *Plethiosphace*, Lamiaceae). *Molecules*, 14(1), 1–9. DOI:10.3390/molecules14010001

- Andersen, O. M., & Markham, K. R. (2005). *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. CRC press.
- Anderson, B. (2005). Adaptations to Foliar Absorption of Faeces: a Pathway in Plant Carnivory. *Annals of Botany*, 95(5), 757–761. DOI:10.1093/aob/mci082
- Angelini, L. G., Carpanese, G., Cioni, P. L., Morelli, I., Macchia, M., & Flamini, G. (2003). Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21), 6158–6164.
- Arey, J., Winer, A. M., Atkinson, R., Aschmann, S. M., Long, W. D., Morrison, C. L., & Olszyk, D. M. (1991). Terpenes emitted from agricultural species found in California's Central Valley. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 96(D5), 9329–9336.
- Arimura, G., Ozawa, R., Kugimiya, S., Takabayashi, J., & Bohlmann, J. (2004). Herbivore-induced defense response in a model legume. Two-spotted spider mites induce emission of (E)- β -ocimene and transcript accumulation of (E)- β -ocimene synthase in *Lotus japonicus*. *Plant Physiology*, 135(4), 1976–1983.
- Armbruster, W. S. (1993). Evolution of plant pollination systems: hypotheses and tests with the neotropical vine *Dalechampia*. *Evolution*, 47(5), 1480–1505.
- Arslan, D., & Schreiner, M. (2012). Chemical characteristics and antioxidant activity of olive oils from Turkish varieties grown in Hatay province. *Scientia Horticulturae*, 144, 141–152.
- Aubourg, S., Lecharny, A., & Bohlmann, J. (2002). Genomic analysis of the terpenoid synthase (AtTPS) gene family of *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Genetics and Genomics*, 267(6), 730–745.
- Audus, L. J., & Cheetham, A. H. (1940). Investigations on the significance of ethereal oils in regulating leaf temperatures and transpiration rates. *Annals of Botany*, 4(15), 465–483.
- Austin, M. B., & Noel, J. P. (2003). The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Natural Product Reports*, 20(1), 79–110.
- Azaz, A. D., Kürkcüoğlu, M., Satil, F., Can Baser, K. H., & Tümen, G. (2005). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of some *Satureja* essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(6), 587–591. DOI:10.1002/ffj.1492
- Back, K., & Chappell, J. (1996). Identifying functional domains within terpene cyclases using a domain-swapping strategy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(13), 6841–6845.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. DOI:10.1016/j.fct.2007.09.106

- Ball, P. W., & Getliffe, F. (1972). Labiatae. In Tutin, T. G., et al. Flora Europaea. Cambridge University Press. Vol. 3.
- Barani, M., Yousefzadi, M., & Moezi, M. (2015). Essential oils, new source of algicidal compounds. Journal of Applied Phycology, 27(1), 267–273. DOI:10.1007/s10811-014-0343-1
- Barberan, F. A. T., Tomás, F., & Nunez, J. M. (1985). Seasonal variation of free flavone aglycones from *Sideritis leucantha* (Lamiaceae). Zeitschrift Für Naturforschung C, 40(11–12), 914–916.
- Barberán, F. A. T., Hernandez, L., & Tomas, F. (1986). A chemotaxonomic study of flavonoids in *Thymbra capitata*. Phytochemistry, 25(2), 561–562.
- Bargel, H., Koch, K., Cerman, Z., & Neinhuis, C. (2006). Evans Review No. 3: Structure–function relationships of the plant cuticle and cuticular waxes—a smart material? Functional Plant Biology, 33(10), 893–910.
- Barthlott, W., & Neinhuis, C. (1997). Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. Planta, 202(1), 1–8.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I., & Wilhelmi, H. (1998). Classification and terminology of plant epicuticular waxes. Botanical Journal of the Linnean Society, 126(3), 237–260.
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2015). Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications, Second Edition. CRC Press.
- Basker, D., & Putievsky, E. (1978). Seasonal variation in the yields of herb and essential oil in some Labiatae species. Journal of Horticultural Science, 53(3), 179–183.
- Beker, R., Dafni, A., Eisikowitch, D., & Ravid, U. (1989). Volatiles of two chemotypes of *Majorana syriaca* L. (Labiatae) as olfactory cues for the honeybee. Oecologia, 79(4), 446–451.
- Bektašević, M., Carev, I., Roje, M., Jurin, M., & Politeo, O. (2017). Phytochemical Composition and Antioxidant Activities of the Essential Oil and Extracts of *Satureja subspicata* Vis. growing in Bosnia and Herzegovina. Chemistry & Biodiversity.
- Bentham, G. (1832). Labiatarum genera et species: or, a description of the genera and species of plants of the order. Labiatae.
- Bentham, G. (1848). Sideritis L. In Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis. (Vol. 12, pp. 212–226). Paris: Treuttel & Würtz.
- Bentham, G., & Hooker, J. D. (1876). Genera plantarum (Vol. 2). London: Reeve And Co.; Williams & Norgate.

- Berim, A., Hyatt, D. C., & Gang, D. R. (2012). A Set of Regioselective O-Methyltransferases Gives Rise to the Complex Pattern of Methoxylated Flavones in Sweet Basil. *PLANT PHYSIOLOGY*, 160(2), 1052–1069. DOI:10.1104/pp.112.204164
- Berim, A., & Gang, D. R. (2013). The Roles of a Flavone-6-Hydroxylase and 7-O-Demethylation in the Flavone Biosynthetic Network of Sweet Basil. *Journal of Biological Chemistry*, 288(3), 1795–1805. DOI:10.1074/jbc.M112.420448
- Berim, A., Park, J.-J., & Gang, D. R. (2014). Unexpected roles for ancient proteins: flavone 8-hydroxylase in sweet basil trichomes is a Rieske-type, PAO-family oxygenase. *The Plant Journal*, 80(3), 385–395. DOI:10.1111/tpj.12642
- Berim, A., Kim, M.-J., & Gang, D. R. (2015). Identification of a Unique 2-Oxoglutarate-Dependent Flavone 7-O-Demethylase Completes the Elucidation of the Lipophilic Flavone Network in Basil. *Plant and Cell Physiology*, 56(1), 126–136. DOI:10.1093/pcp/pcu152
- Berim, A., & Gang, D. R. (2016). Methoxylated flavones: occurrence, importance, biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, 15(3), 363–390. DOI:10.1007/s11101-015-9426-0
- Bezbradica, D. I., Tomovic, J. M., Vukasinovic, M. S., Siler-Marinkovic, S., & Ristic, M. M. (2005). Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Satureja montana* L. collected in Serbia and Montenegro. *Journal of Essential Oil Research*, 17(4), 462–465.
- Bezić, N., Skočibušić, M., & Dunkić, V. (2005). Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. and *Satureja cuneifolia* Ten. essential oils. *Acta Botanica Croatica*, 64(2), 313–322.
- Bezić, N., Šamanić, I., Dunkić, V., Besendorfer, V., & Puizina, J. (2009). Essential oil composition and internal transcribed spacer (ITS) sequence variability of four south-Croatian *Satureja* species (Lamiaceae). *Molecules*, 14(3), 925–938.
- Bhalla, Y., Gupta, V. K., & Jaitak, V. (2013). Anticancer activity of essential oils: a review: Anticancer activity of essential oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(15), 3643–3653. DOI:10.1002/jsfa.6267
- Bick, J. A., & Lange, B. M. (2003). Metabolic cross talk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis: unidirectional transport of intermediates across the chloroplast envelope membrane. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 415(2), 146–154.
- Bilia, A. R., Cioni, P., Morelli, I., Coppi, C., Lippi, A., & Tomei, P. E. (1992). Essential Oil of *Satureja montana*, L. ssp. *montana*. Composition and Yields of Plants Grown Under Different Environmental Conditions. *Journal of Essential Oil Research*, 4(6), 563–568. DOI:10.1080/10412905.1992.9698136

- Bohlmann, J., Meyer-Gauen, G., & Croteau, R. (1998). Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(8), 4126–4133.
- Boira, H., & Blanquer, A. (1998). Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26(8), 811–822.
- Boissier, E. (1879). *Flora Orientalis*, Georg, Geneve and Bale, Vol. 4, H.
- Borisova, A. G. (1954). Labiatae. In B. K. Shishkin(ed.), *Flora USSR*, 21: 596-628, Bot. Inst. of the Academy of Sc.of the USSR, Moscow, Leningrad.
- Boulogne, I., Petit, P., Ozier-Lafontaine, H., Desfontaines, L., & Loranger-Merciris, G. (2012). Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 10(4), 325–347. DOI:10.1007/s10311-012-0359-1
- Bowers, M. D., & Puttick, G. M. (1986). Fate of ingested iridoid glycosides in lepidopteran herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, 12(1), 169–178.
- Bramer, C., Dobler, S., Deckert, J., Stemmer, M., & Petschenka, G. (2015). Na⁺/K⁺-ATPase resistance and cardenolide sequestration: basal adaptations to host plant toxins in the milkweed bugs (Hemiptera: Lygaeidae: Lygaeinae). *Proc. R. Soc. B*, 282(1805), 20142346.
- Bräuchler, C., Meimberg, H., Abele, T., & Heubl, G. (2005). Polyphyly of the Genus *Micromeria* (Lamiaceae): Evidence from cpDNA Sequence Data. *Taxon*, 54(3), 639. DOI:10.2307/25065421
- Bräuchler, C., Ryding, O., & Heubl, G. (2008). The genus *Micromeria* (Lamiaceae), a synoptical update. *Willdenowia*, 38(2), 363–410. DOI:10.3372/wi.38.38202
- Bräuchler, C., Meimberg, H., & Heubl, G. (2010). Molecular phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae) – Taxonomy, biogeography and conflicts. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(2), 501–523. DOI:10.1016/j.ympev.2010.01.016
- Briggs, D. E. G., Evershed, R. P., & Lockheart, M. J. (2000). The biomolecular paleontology of continental fossils. *Paleobiology*, 26(sp4), 169–193. DOI:10.1666/0094-8373(2000)26[169:TBPOCF]2.0.CO;2
- Briquet, J. (1895). Labiatae. In Engler and Prantle's. *Die Naturlichen Pflanzenfamilien* (Vol. 4, pp. 183–375). Leipzig: W. Engelmann.
- Briquet, J. (1896^a). Labiatae in Engler und Prantl, 1897—*Die natürlichen Pflanzenfamilien*, 4 (3a), 1895. Leipzig.

- Briquet, J. (1896^b). *Satureja*. In Engler and Prantle's. Die Naturlichen Pflanzenfamilien (Vol. 4, pp. 296–303). Leipzig: W. Engelmann.
- Bros, I., Soran, M.-L., Briciu, R., & Cobzac, S. (2009). HPTLC quantification of some flavonoids in extracts of *Satureja hortensis* L. obtained by use of different techniques. JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC, 22(1), 25–28.
- Broun, P., Poindexter, P., Osborne, E., Jiang, C.-Z., & Riechmann, J. L. (2004). WIN1, a transcriptional activator of epidermal wax accumulation in Arabidopsis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101(13), 4706–4711.
- Brullo, S., & Furnari, F. (1979). «*Eubesperida linearifolia*» gen. et sp. nov. of Labiatae of Cyrenaica. Webbia, 34(1), 433–437.
- Buckingham, J., & Munasinghe, V. R. N. (2015). Dictionary of Flavonoids with CD-ROM. Taylor & Francis.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3), 223–253.
- Cameron, K. D., Teece, M. A., Bevilacqua, E., & Smart, L. B. (2002). Diversity of cuticular wax among *Salix* species and *Populus* species hybrids. Phytochemistry, 60(7), 715–725.
- Cantino, P. D., & Sanders, R. W. (1986). Subfamilial classification of Labiatae. Systematic Botany, 163–185.
- Cantino, P. D., Harley, R. M., & Wagstaff, S. J. (1992). Genera of Labiatae: Status and classification. *Advances in Labiate science*, 511–522.
- Cantino, P. D., & Wagstaff, S. J. (1998). A reexamination of North American *Satureja* s.l. (Lamiaceae) in light of molecular evidence. Brittonia, 50(1), 63–70.
- Capone, W., Mascia, C., Melis, M., & Spanedda, L. (1988). Determination of terpenic compounds in the essential oil from *Satureja thymbra* L. growing in Sardinia. Journal of Chromatography A, 457, 427–430.
- Castroviejo, S. (1986). Flora Iberica: plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Verbenaceae, Labiatae, Callitrichaceae. Real Jardín Botánico. CSIC
- Chaintreau, A. (2001). Simultaneous distillation–extraction: from birth to maturity. Flavour and Fragrance Journal, 16(2), 136–148.

- Chalchat, J.-C., Gorunovic, M. S., & Maksimovic, Z. A. (1999). Essential Oil of *Satureja kitaibelii* Wierzb. f. *aristata* (Vand.) Hayek, Lamiaceae from Eastern Serbia. *Journal of Essential Oil Research*, 11(6), 691–692. DOI:10.1080/10412905.1999.9711997
- Champagne, A., & Boutry, M. (2016). Proteomics of terpenoid biosynthesis and secretion in trichomes of higher plant species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1864(8), 1039–1049. DOI:10.1016/j.bbapap.2016.02.010
- Cheesbrough, T. M., & Kolattukudy, P. E. (1984). Alkane biosynthesis by decarbonylation of aldehydes catalyzed by a particulate preparation from *Pisum sativum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(21), 6613–6617.
- Chen, J.-L., Fang, H.-M., Ji, Y.-P., Pu, G.-B., Guo, Y.-W., Huang, L.-L., ... Wang, H. (2011). Artemisinin Biosynthesis Enhancement in Transgenic *Artemisia annua* Plants by Downregulation of the β - Caryophyllene Synthase Gene. *Planta Medica*, 77(15), 1759–1765. DOI:10.1055/s-0030-1271038
- Cheng, A.-X., Lou, Y.-G., Mao, Y.-B., Lu, S., Wang, L.-J., & Chen, X.-Y. (2007). Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49(2), 179–186.
- Chizzola, R. (2003). Volatile oil composition of four populations of *Satureja montana* L. from southern France. *Acta Hortic.*, (598), 143–147. DOI:10.17660/ActaHortic.2003.598.20
- Chorianopoulos, N., Kalpoutzakis, E., Aliogiannis, N., Mitaku, S., Nychas, G.-J., & Haroutounian, S. A. (2004). Essential Oils of *Satureja*, *Origanum*, and *Thymus* Species: Chemical Composition and Antibacterial Activities Against Foodborne Pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8261–8267. DOI:10.1021/jf049113i
- Chorianopoulos, N., Evergetis, E., Mallouchos, A., Kalpoutzakis, E., Nychas, G.-J., & Haroutounian, S. A. (2006). Characterization of the Essential Oil Volatiles of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica*: Influence of Harvesting Time and Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(8), 3139–3145. DOI:10.1021/jf053183n
- Cook, C. M., Lanaras, T., & Kokkini, S. (2007). Essential Oils of Two *Calamintha glandulosa* (Req.) Benth. chemotypes in a Wild Population from Zakynthos, Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 19(6), 534–539. DOI:10.1080/10412905.2007.9699324
- Cosson, E. S.-C., & Durand, E. M. (1853). *Saccocalyx*, 20, 80.
- Crocoll, C., Asbach, J., Novak, J., Gershenzon, J., & Degenhardt, J. (2010). Terpene synthases of oregano (*Origanum vulgare* L.) and their roles in the pathway and regulation of terpene biosynthesis. *Plant Molecular Biology*, 73(6), 587–603. DOI:10.1007/s11103-010-9636-1

- Crocoll, C. (2011). Biosynthesis of the phenolic monoterpenes, thymol and carvacrol, by terpene synthases and cytochrome P450s in oregano and thyme. Universität Jen - Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät der Friedrich-Schiller
- Crutzen, P. J., & Andreae, M. O. (1990). Biomass burning in the tropics: Impact on atmospheric chemistry and biogeochemical cycles. *Science*, 250(4988), 1669–1678.
- Cuadra, P., Harborne, J. B., & Waterman, P. G. (1997). Increases in surface flavonols and photosynthetic pigments in *Gnaphalium luteo-album* in response to UV-B radiation. *Phytochemistry*, 45(7), 1377–1383.
- Čarni, A. (2017). Vegetation Of Deciduous Forests In The Balkan Peninsula. Contributions, Section of Natural, Mathematical and Biotechnical Sciences, MASA 37(2), 93-104.
- Ćavar, S., Maksimović, M., Šolić, M. E., Jerković-Mujkić, A., & Bešta, R. (2008). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chemistry*, 111(3), 648–653. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.04.033
- Ćavar, S., Šolić, M. E., & Maksimović, M. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of two *Satureja* species from Mt. Biokovo. *Botanica Serbica*, 37(2), 159–165.
- Ćavar Zeljković, S., & Maksimović, M. (2015). Chemical composition and bioactivity of essential oil from *Thymus* species in Balkan Peninsula. *Phytochemistry Reviews*, 14(3), 335–352. DOI:10.1007/s11101-014-9378-9
- Damjanovic-Vratnica, B., Perovic, A., Sukovic, D., & Perovic, S. (2011). Effect of vegetation cycle on chemical content and antibacterial activity of *Satureja montana* L. *Archives of Biological Sciences*, 63(4), 1173–1179. <https://doi.org/10.2298/ABS1104173D>
- Dardioti, A., Hanlidou, E., Lanaras, T., & Kokkini, S. (2010). The Essential Oils of the Greek Endemic *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla* in Relation to Bioclimate. *Chemistry & Biodiversity*, 7(8), 1968–1977.
- Dardioti, A., Karousou, R., Lanaras, T., & Kokkini, S. (2012). Diversity of *Satureja pilosa* subsp. *origanita* essential oils: A new “oregano” from East Mediterranean. *Biochemical Systematics and Ecology*, 40, 178–183. DOI:10.1016/j.bse.2011.10.015
- Davis, E. M., & Croteau, R. (2000). Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, and diterpenes. In *Biosynthesis* (pp. 53–95). Springer.
- Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and the Aegean Islands*. (Vols. 1–8). Edinburgh: Univ. Pres. Edinburgh.

- De Martino, L., De Feo, V., Formisano, C., Mignola, E., & Senatore, F. (2009). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Three Chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart Growing Wild in Campania (Southern Italy). *Molecules*, 14(8), 2735–2746. DOI:10.3390/molecules14082735
- DeBono, A., Yeats, T. H., Rose, J. K., Bird, D., Jetter, R., Kunst, L., & Samuels, L. (2009). Arabidopsis LTPG is a glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein required for export of lipids to the plant surface. *The Plant Cell*, 21(4), 1230–1238.
- del Baño, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Marín, M. P., Del Río, J. A., ... Ibarra, I. (2004). Flavonoid Distribution during the Development of Leaves, Flowers, Stems, and Roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of a Biosynthetic Pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 4987–4992. DOI:10.1021/jf040078p
- Díaz-Maroto, M. C., Sánchez Palomo, E., Castro, L., Viñas, G., & Pérez-Coello, M. S. (2004). Changes produced in the aroma compounds and structural integrity of basil (*Ocimum basilicum* L.) during drying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(15), 2070–2076.
- Digimizer image analysis software [Internet]. Belgium: [cited 2018 July 22]. Available from: <http://www.digimizer.com>.
- Diklić, N., & Janković, M. (1974). Lamiaceae. In Josifović, M., Flora SR Srbije (Vol. 6). Beograd.
- Dobson, H. E., Bergström, G., & Groth, I. (1990). Differences in fragrance chemistry between flower parts of *Rosa rugosa* Thunb. (Rosaceae). *Israel Journal of Plant Sciences*, 39(1–2), 143–156.
- Dobson, H. E., Groth, I., & Bergstrom, G. (1996). Pollen advertisement: chemical contrasts between whole-flower and pollen odors. *American Journal of Botany*, 877–885.
- Dodd, R. S., & Afzal-Rafii, Z. (2000). Habitat-related adaptive properties of plant cuticular lipids. *Evolution*, 54(4), 1438–1444.
- Dodd, R. S., & Poveda, M. M. (2003). Environmental gradients and population divergence contribute to variation in cuticular wax composition in *Juniperus communis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(11), 1257–1270.
- Dodoš, T., Rajčević, N., Tešević, V., Matevski, V., Janačković, P., & Marin, P. D. (2015). Composition of Leaf n-Alkanes in Three *Satureja montana* L. Subspecies from the Balkan Peninsula: Ecological and Taxonomic Aspects. *Chemistry & biodiversity*, 12(1), 157–169.

- Dodoš, T., Rajčević, N., Tešević, V., & Marin, P. D. (2017). Chemodiversity of Epicuticular *n*-Alkanes and Morphological Traits of Natural Populations of *Satureja subspicata* Bartl. ex Vis. along Dinaric Alps—Ecological and Taxonomic Aspects. *Chemistry & biodiversity*, 14(2), e1600201.
- Doroszenko, A. M. (1986). Taxonomic studies on the *Satureja* complex (Labiatae) (PhD Thesis). Edinburgh. Retrieved from <https://www.era.lib.ed.ac.uk/handle/1842/13694>
- Dove, H., & Mayes, R. W. (1991). The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. *Crop and Pasture Science*, 42(6), 913–952.
- Dove, H., Mayes, R. W., & Freer, M. (1996). Effects of species, plant part, and plant age on the *n*-alkane concentrations in the cuticular wax of pasture plants. *Crop and Pasture Science*, 47(8), 1333–1347.
- Drew, Bryan T., & Sytsma, K. J. (2011). Testing the Monophyly and Placement of *Lepechinia* in the Tribe Mentheae (Lamiaceae). *Systematic Botany*, 36(4), 1038–1049. DOI:10.1600/036364411X605047
- Drew, B. T., & Sytsma, K. J. (2012). Phylogenetics, biogeography, and staminal evolution in the tribe Mentheae (Lamiaceae). *American Journal of Botany*, 99(5), 933–953. DOI:10.3732/ajb.1100549
- Dudareva, Natalia, & Pichersky, E. (2000). Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiology*, 122(3), 627–634.
- Dudareva, Natalia, Murfitt, L. M., Mann, C. J., Gorenstein, N., Kolosova, N., Kish, C. M., ... Wood, K. (2000). Developmental regulation of methyl benzoate biosynthesis and emission in snapdragon flowers. *The Plant Cell*, 12(6), 949–961.
- Dudareva, N. (2003). (E)-beta-Ocimene and Myrcene Synthase Genes of Floral Scent Biosynthesis in Snapdragon: Function and Expression of Three Terpene Synthase Genes of a New Terpene Synthase Subfamily. *The Plant Cell Online*, 15(5), 1227–1241. DOI:10.1105/tpc.011015
- Dudareva, Natalia, Andersson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., ... Gershenzon, J. (2005). The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(3), 933–938.
- Dudaš, S., Šegon, Petar, Erhatic, Renata, & Kovačević, Vesna. (2005). Untersuchung zu Einflussfaktoren auf ätherische Öle in Thymian (*Thymus vulgaris* L.). Berlin: Logos-Verl.
- Dunki, Valerija, Bezić, N., Ljubešić, N., & Bočina, I. (2007). Glandular hair ultrastructure and essential oils in *Satureja subspicata* Vis. ssp. *subspicata* and ssp. *liburnica* Šilić. *Acta Biol. Cracov. Series Bot*, 49, 45–51.

- DunkiĆ, Valerija, & Bezić, N. (2008). Comparison of essential oils of endemic *Satureja visianii* Šilić with other *Satureja* species of Croatia. In 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF.
- DunkiĆ, Valerija, Kremer, D., Dragojević Müller, I., Stabentheiner, E., Kuzmić, S., Jurišić Grubešić, R., ... Srećec, S. (2012). Chemotaxonomic and micromorphological traits of *Satureja montana* L. and *S. subspicata* Vis.(Lamiaceae). Chemistry & Biodiversity, 9(12), 2825–2842.
- DunkiĆ, V., Kremer, D., Jurišić Grubešić, R., Vuković Rodríguez, J., Ballian, D., Bogunić, F., ... Stabentheiner, E. (2017). Micromorphological and phytochemical traits of four Clinopodium L. species (Lamiaceae). South African Journal of Botany, 111, 232–241. DOI:10.1016/j.sajb.2017.03.013
- Đorđević, A., Palić, I., Stojanović, G., Ristić, N., & Palić, R. (2014). Chemical Profile of *Satureja kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. Essential Oils: Composition of *Satureja kitaibelii* Essential Oils. International Journal of Food Properties, 17(10), 2157–2165.
- Edwards, C. E., Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (2006). Molecular Phylogeny of Conradina and Other Scrub Mints (Lamiaceae) from the Southeastern USA: Evidence for Hybridization in Pleistocene Refugia? Systematic Botany, 31(1), 193–207. DOI:10.1600/036364406775971688
- Eglinton, G., Gonzalez, A. G., Hamilton, R. J., & Raphael, R. A. (1962). Hydrocarbon constituents of the wax coatings of plant leaves: a taxonomic survey. Phytochemistry, 1(2), 89–102.
- Emboden, W. A., & Lewis, H. (1967). Terpenes as taxonomic characters in *Salvia* section Audibertia. Brittonia, 19(2), 152–160.
- Epling, C., & Játiva, C. (1966). A descriptive key to the species of *Satureja* indigenous to North America. Brittonia, 18(3), 244–248.
- Erdtman, G. (1945). Pollen morphology and plant taxonomy IV. Labiatae, Verbenaceae and Avicenniaceae. Svensk. Bot. Tidskr., 39, 279–285.
- Euro+Med (2006-): Euro+Med PlantBase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. Published on the Internet <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/> [accessed 2018].
- Ezer, N., Vila, R., Cañigüeral, S., & Adzet, T. (1996). Essential oil composition of four Turkish species of *Sideritis*. Phytochemistry, 41(1), 203–205.
- Fahey Jr, G. C., & Jung, H. J. G. (1989). Phenolic compounds in forages and fibrous feedstuffs. Toxicants of Plant Origin, 4, 123–190.
- Falcone Ferreyra, M. L., Emiliani, J., Rodriguez, E. J., Campos-Bermudez, V. A., Grotewold, E., & Casati, P. (2015). The Identification of Maize and Arabidopsis Type I Flavone Synthases Links Flavones

- with Hormones and Biotic Interactions. *Plant Physiology*, 169(2), 1090–1107. DOI:10.1104/pp.15.00515
- Farré-Armengol, G., Filella, I., Llusia, J., Niinemets, Ü., & Peñuelas, J. (2014). Changes in floral bouquets from compound-specific responses to increasing temperatures. *Global Change Biology*, 20(12), 3660–3669.
- Farré-Armengol, G., Filella, I., Llusia, J., & Peñuelas, J. (2015). Relationships among floral VOC emissions, floral rewards and visits of pollinators in five plant species of a Mediterranean shrubland. *Plant Ecology and Evolution*, 148(1), 90–99.
- Farsam, H., Amanlou, M., Radpour, M. R., Salehinia, A. N., & Shafiee, A. (2004). Composition of the essential oils of wild and cultivated *Satureja khuzistanica* Jamzad from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(4), 308–310. DOI:10.1002/ffj.1300
- Fattahi, M., Cusido, R., Khojasteh, A., Bonfill, M., & Palazon, J. (2014). Xanthomicrol: A Comprehensive Review of Its Chemistry, Distribution, Biosynthesis and Pharmacological Activity. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(9), 725–733. <https://doi.org/10.2174/1389557514666140820122818>
- Ferreres, F., Tomás-Lorente, F., Tomás-Barberán, F. A., & Rivera, D. (1989). Biochemical Identification of *Sideritis serrata* x *S. bourgaeana* hybrids by HPLC analyses of flavonoids. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 44(7–8), 568–572.
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Salgueiro, L., Miguel, M. G., & Faleiro, M. L. (2008). Portuguese *Thymra* and *Thymus* species volatiles: chemical composition and biological activities. *Current Pharmaceutical Design*, 14(29), 3120–3140.
- Fischer, N.H., Tanrisever, N., & Williamson, G.B. (1988). Allelopathy in the Florida scrub community as a model for natural herbicide actions, in G.R. Waller (ed.). *Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry*. American Chemical Society Symposium Series 330. American Chemical Society, Washington, DC. 233–249
- Flügge, U.-I., & Gao, W. (2005). Transport of isoprenoid intermediates across chloroplast envelope membranes. *Plant Biology*, 7(1), 91–97.
- Fraternal, D., Giamperi, L., Ricci, D., & Manunta, A. (1998). Composition of Essential Oil as a Taxonomic Marker for *Calamintha nepeta*(L.) Savi ssp. *nepeta*. *Journal of Essential Oil Research*, 10(5), 568–570. DOI:10.1080/10412905.1998.9700973

- Fraternale, D., Giamperi, L., Bucchini, A., Ricci, D., Epifano, F., Genovese, S., & Curini, M. (2007). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Satureja montana* from central Italy. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(5), 622–624.
- Freeland, W. J., Calcott, P. H., & Anderson, L. R. (1985). Tannins and saponin: interaction in herbivore diets. *Biochemical Systematics and Ecology*, 13(2), 189–193.
- Friedman, J. (1988). Allelopathy in desert ecosystems, in G.R. Waller (ed.). *Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry*. American Chemical Society Symposium Series 330. American Chemical Society, Washington, DC, 53–68.
- García-Rellán, D., Blázquez, M. A., & Boira, H. (2015). Differential Essential Oil Composition and Morphology between Perennial *Satureja* species Growing in Spain. *Records of Natural Products*, 9(4), 623–627.
- Gasic, M. J., & Palic, R. (1983). Monoterpenoids in *Satureja borvatii* Silic and *Satureja subspicata* Bartl. ex Vis. subsp. *subspicata*. *Bull. Soc. Chim. Beograd*, 48, 677–679.
- Gershenzon, J., & Kreis, W. (1999). Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sterols, cardiac glycosides and steroid saponins. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*, 2, 222–299.
- Gershenzon, J., McConkey, M. E., & Croteau, R. B. (2000). Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiology*, 122(1), 205–214.
- Ghamari, H., Saidi, M., Ghaasemnejad, A., & Ghanbari, A. R. (2016). Evaluation of Phytochemical Composition of Sahandian Savory (*Satureja sabendica* Bornm.) Essential Oils at Different Phenological Stages. *شماره 8 جلد 1 بهار 1395*, 8(1), 15.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Oraie, M., Pouriamehr, M., & Babadi, E. S. (2013). Effects of drying methods on qualitative and quantitative of the essential oil of Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.). *Industrial Crops and Products*, 46, 324–327. DOI:10.1016/j.indcrop.2013.02.014
- Ghorbanpour, M., & Hadian, J. (2017). Variation of the Phytochemical Constituents of Different Individual Plants in *Satureja macrosiphonia* Bornm (Labiatae) Growing Wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(3), 720–728. DOI:10.1080/0972060X.2017.1358675
- Gil, M. I., Ferreres, F., Marrero, A., Tomás-Lorente, F., & Tomas-Barberan, F. A. (1993). Distribution of flavonoid aglycones and glycosides in *Sideritis* species from the Canary Islands and Madeira. *Phytochemistry*, 34(1), 227–232.

- Gohari, A. R., Hadjiakhoondi, A., Sadat-Ebrahimi, E., Saeidnia, S., & Shafiee, A. (2005). Cytotoxic terpenoids from *Satureja macrantha* CA Mey. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 13(4), 177–181.
- Gohari, A. R., Hadjiakhoondi, A., Sadat-Ebrahimi, E., Saeidnia, S., & Shafiee, A. (2006). Composition of the volatile oils of *Satureja spicigera* C. Koch Boiss. and *S. macrantha* C. A. Mey from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 21(3), 510–512. DOI:10.1002/ffj.1613
- Gonceariuc, M., Balmuş, Z., Benea, A., Barsan, V., & Sandu, T. (2015). Biochemical diversity of the *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart genotypes from Moldova. Buletinul AŞM, Ştiinţele Vieţii, (2), 326.
- González, G. L. (1981). Conspectus Saturejarum Ibericarum Cum Potioribus Adnotationibus Ad Quasdam Earum Praesertim Aspicientibus, 38(2). Anales 38(2), 361-415.
- Gorb, E. V., & Gorb, S. N. (2002). Attachment ability of the beetle *Chrysolina fastuosa* on various plant surfaces. Entomologia Experimentalis et Applicata, 105(1), 13–28.
- Granger, R., Passet, J., & Verdier, R. (1965). Linalool in the Essential Oil of *Thymus vulgaris*.
- Grayer, R. J., Bryan, S. E., Veitch, N. C., Goldstone, F. J., Paton, A., & Wollenweber, E. (1996^a). External flavones in sweet basil, *Ocimum basilicum*, and related taxa. Phytochemistry, 43(5), 1041–1047.
- Grayer, R. J., Kite, G. C., Goldstone, F. J., Bryan, S. E., Paton, A., & Putievsky, E. (1996^b). Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. Phytochemistry, 43(5), 1033–1039.
- Grayer, R. J., & de Kok, R. P. (1998). Flavonoids and verbascoside as chemotaxonomic characters in the genera *Oxera* and *Faradaya* (Labiatae). Biochemical Systematics and Ecology, 26(7), 729–741.
- Grayer, R. J., Chase, M. W., & Simmonds, M. S. (1999). A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families: an appreciation of Hegnauer's "Chemotaxonomie der Pflanzen." Biochemical Systematics and Ecology, 27(4), 369–393.
- Grayer, R. J., Veitch, N. C., Kite, G. C., Price, A. M., & Kokubun, T. (2001). Distribution of 8-oxygenated leaf-surface flavones in the genus *Ocimum*. Phytochemistry, 56(6), 559–567.
- Grayer, R. J., Kite, G. C., Veitch, N. C., Eckert, M. R., Marin, P. D., Senanayake, P., & Paton, A. J. (2002). Leaf flavonoid glycosides as chemosystematic characters in *Ocimum*. Biochemical Systematics and Ecology, 30(4), 327–342.

- Grayer, R. J., Vieira, R. F., Price, A. M., Kite, G. C., Simon, J. E., & Paton, A. J. (2004). Characterization of cultivars within species of *Ocimum* by exudate flavonoid profiles. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32(10), 901–913. DOI:10.1016/j.bse.2004.04.002
- Grayer, R. J., Eckert, M. R., Lever, A., Veitch, N. C., Kite, G. C., & Paton, A. J. (2010). Distribution of exudate flavonoids in the genus *Plectranthus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(3), 335–341. DOI:10.1016/j.bse.2010.01.014
- Greer, S., Wen, M., Bird, D., Wu, X., Samuels, L., Kunst, L., & Jetter, R. (2007). The Cytochrome P450 Enzyme CYP96A15 Is the Midchain Alkane Hydroxylase Responsible for Formation of Secondary Alcohols and Ketones in Stem Cuticular Wax of *Arabidopsis*. *PLANT PHYSIOLOGY*, 145(3), 653–667. DOI:10.1104/pp.107.107300
- Greuter, W., & Raus, T. (1989). Med-Checklist Notulae, 15. *Willdenowia*, 27–48.
- Grosjean, D., Williams, E. L., & Seinfeld, J. H. (1992). Atmospheric oxidation of selected terpenes and related carbonyls: gas-phase carbonyl products. *Environmental Science & Technology*, 26(8), 1526–1533.
- Grosso, C., Coelho, J. A., Urieta, J. S., Palavra, A. M. F., & Barroso, J. G. (2010). Herbicidal activity of volatiles from coriander, winter savory, cotton lavender, and thyme isolated by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(20), 11007–11013.
- Grotewold, E. (2006). *The Science of Flavonoids*. Springer New York.
- Gülz, Paul-Gerhard, Hemmers, H., Bodden, J., & Marner, F.-J. (1987). Epicuticular leaf wax of *Euphorbia dendroides* L., Euphorbiaceae. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 42(3), 191–196.
- Gülz, P.-G., Müller, E., & Prasad, R. B. N. (1991). Developmental and seasonal variations in the epicuticular waxes of *Tilia tomentosa* leaves. *Phytochemistry*, 30(3), 769–773.
- Gulz, P. G., & Boor, G. (1992). Seasonal variations in epicuticular wax ultrastructures of *Quercus robur* leaves. *Z. Naturforsch. Sect. C.-J. Biosci*, 47(11–12), 800–806
- Gülz, Paul-Gerhard. (1994). Epicuticular leaf waxes in the evolution of the plant kingdom. *Journal of Plant Physiology*, 143(4), 453–464.
- Guelz, P. G., Müller, E., & Herrmann, T. (1992). Chemical composition and surface structures of epicuticular leaf waxes from *Castanea sativa* and *Aesculus hippocastanum*. *Z. Naturforsch. Sect. C Bio. Sci*, 47(9–10), 661–666.

- Gutensohn, M., Orlova, I., Nguyen, T. T., Davidovich-Rikanati, R., Ferruzzi, M. G., Sitrit, Y., ... Dudareva, N. (2013). Cytosolic monoterpene biosynthesis is supported by plastid-generated geranyl diphosphate substrate in transgenic tomato fruits. *The Plant Journal*, 75(3), 351–363.
- Hadian, J., Hossein Mirjalili, M., Reza Kanani, M., Salehnia, A., & Ganjipoor, P. (2011). Phytochemical and Morphological Characterization of *Satureja khuzistanica* Jamzad Populations from Iran. *Chemistry & Biodiversity*, 8(5), 902–915.
- Hajdari, A., Mustafa, B., Kaçiku, A., Mala, X., Lukas, B., Ibraliu, A., ... Novak, J. (2016). Chemical Composition of the Essential Oil, Total Phenolics, Total Flavonoids and Antioxidant Activity of Methanolic Extracts of *Satureja montana* L. *Records of Natural Products*, 10(6).
- Haloci, E., Toska, V., Vertuani, S., Meto, A., Goci, E., Mustafaj, E., & Manfredini, S. (2014). Development and validation of a GC/FID method for identification and quantification of main components of *Satureja montana* L. essential oil.
- Harborne, J. B., Tomás-Barberán, F. A., Williams, C. A., & Gil, M. I. (1986). A chemotaxonomic study of flavonoids from European *Teucrium* species. *Phytochemistry*, 25(12), 2811–2816.
- Harborne, J. B. (1989). Flavonoids. In *Natural products of woody plants* (pp. 533–570). Springer.
- Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A. L., Cantino, P. D., Conn, B. J., Grayer, R., ... Upson, T. (2004). Labiatae. In K. Kubitzki & J. W. Kadereit, *Flowering Plants • Dicotyledons* (Vol. 7, pp. 167–275). Springer Berlin Heidelberg
- Haslam, T. M., & Kunst, L. (2013). Extending the story of very-long-chain fatty acid elongation. *Plant Science*, 210, 93–107.
- Hauser, M.-T. (2014). Molecular basis of natural variation and environmental control of trichome patterning. *Frontiers in Plant Science*, 5, 320.
- Hayek, A. (1929). *Prodromus Florae peninsulae Balcanicae* (Vol. 2). Berlin-Dahlem: in Feddes Repert. (Beih.) 30.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Faleiro, M. L., & Miguel, M. G. (2006). Composition of the Essential Oils of *Thymus* and *Origanum* Species from Algeria and Their Antioxidant and Antimicrobial Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 6314–6321. DOI:10.1021/jf0606104
- Hedin, P. A., & Waage, S. K. (1986). Roles of flavonoids in plant resistance to insects. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine*, Buffalo, New York (USA), 22-26 Jul 1985. Liss.

- Hemmerlin, A., Hoeffler, J.-F., Meyer, O., Tritsch, D., Kagan, I. A., Grosdemange-Billiard, C., ... Bach, T. J. (2003). Cross-talk between the cytosolic mevalonate and the plastidial methylerythritol phosphate pathways in tobacco bright yellow-2 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 278(29), 26666–26676.
- Henry, L. K., Gutensohn, M., Thomas, S. T., Noel, J. P., & Dudareva, N. (2015). Orthologs of the archaeal isopentenyl phosphate kinase regulate terpenoid production in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(32), 10050–10055.
- Herms, D. A., & Mattson, W. J. (1992). The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67(3), 283–335.
- Hernández, L. M., Tomás-Barberán, F. A., & Tomás-Lorente, F. (1987). A chemotaxonomic study of free flavone aglycones from some Iberian *Thymus* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 15(1), 61–67.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25(15), 1965–1978.
- Hijmans, R. J., Guarino, L., & Mathur, P. (2012). DIVA-GIS. Version 7.5. A geographic information system for the analysis of species distribution data. Available at: www.diva-gis.org.
- Hillwig, M. L., Xu, M., Toyomasu, T., Tiernan, M. S., Wei, G., Cui, G., ... Peters, R. J. (2011). Domain loss has independently occurred multiple times in plant terpene synthase evolution. *The Plant Journal*, 68(6), 1051–1060.
- Holloway, P. (1994). Plant Cuticles: Physicochemical Characteristics and Biosynthesis. In K. Percy, J. N. Cape, R. Jagels, & C. Simpson (Eds.), *Air Pollutants and the Leaf Cuticle* (Vol. 36, pp. 1–13). Springer Berlin Heidelberg. Retrieved from http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-79081-2_1
- Hooker, T. S., Millar, A. A., & Kunst, L. (2002). Significance of the expression of the CER6 condensing enzyme for cuticular wax production in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 129(4), 1568–1580.
- Hooker, T. S., Lam, P., Zheng, H., & Kunst, L. (2007). A core subunit of the RNA-processing/degrading exosome specifically influences cuticular wax biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 19(3), 904–913. DOI:10.1105/tpc.106.049304
- Horwath, A. B., Grayer, R. J., Keith-Lucas, D. M., & Simmonds, M. S. J. (2008). Chemical characterisation of wild populations of *Thymus* from different climatic regions in southeast Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(2), 117–133. DOI:10.1016/j.bse.2007.08.009

- Huang, X., Meyers, P. A., Wu, W., Jia, C., & Xie, S. (2011). Significance of long chain iso and anteiso monomethyl alkanes in the Lamiaceae (mint family). *Organic Geochemistry*, 42(2), 156–165. DOI:10.1016/j.orggeochem.2010.11.008
- Ibraliu, A., Mi, X., Ristić, M., Dajic, S. Z., & Shehu, J. (2011^a). Analysis of essential oils of three wild medicinal plants in Albania. *J Med Plants Res*, 5(1), 58–62.
- Ibraliu, A., Mi, X., & Elezi, F. (2011^b). Variation in essential oils to study the biodiversity in *Satureja montana* L. *J Med Plant Res*, 5(14), 2978–2989.
- Ibraliu, A., Dhillon, B. S., Faslia, N., & Stich, B. (2013). Variability of essential oil composition in Albanian accessions of *Satureja montana* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(14), 1359–1364.
- Iijima, Y. (2004). The Biochemical and Molecular Basis for the Divergent Patterns in the Biosynthesis of Terpenes and Phenylpropenes in the Peltate Glands of Three Cultivars of Basil. *PLANT PHYSIOLOGY*, 136(3), 3724–3736. DOI:10.1104/pp.104.051318
- Jacobs, M., & Rubery, P. H. (1988). Naturally occurring auxin transport regulators. *Science*, 241(4863), 346–349.
- Jaime, A. Y., Remsberg, C. M., Takemoto, J. K., Vega-Villa, K. R., Andrews, P. K., Sayre, C. L., ... Davies, N. M. (2013). Polyphenols and flavonoids: an overview.
- Janačković, P., Rajčević, N., & Gavrilović, M. (2017). Fitohemijski praktikum. Biološki fakultet, Beograd.
- Jančić, R., Stošić, D., Mimica Đukić, N., & Lakušić, B. (1995): Aromatične biljke Srbije, NIP *Dečje novine*, Beograd-Gornji Milanovac
- Janeska, B., Stefova, M., & Alipieva, K. (2007). Assay of flavonoid aglycones from the species of genus *Sideritis* (Lamiaceae) from Macedonia with HPLC-UV DAD. *Acta Pharmaceutica*, 57(3). DOI:10.2478/v10007-007-0030-8
- Jeffree, C. E., Baker, E. A., & Holloway, P. J. (1975). Ultrastructure and recrystallization of plant epicuticular waxes. *New Phytologist*, 75(3), 539–549.
- Jeffree, Christopher E. (1996). Structure and ontogeny of plant cuticles. *Plant Cuticles: An Integrated Functional Approach*. BIOS Scientific Publishers Ltd.: Oxford, UK, 33–82.
- Jeffree, Christopher E. (2006). The fine structure of the plant cuticle. *Biology of the Plant Cuticle*, 23, 11–125.
- Jenks, M. A., Gaston, C. H., Goodwin, M. S., Keith, J. A., Teusink, R. S., & Wood, K. V. (2002). Seasonal variation in cuticular waxes on *Hosta* genotypes differing in leaf surface glaucousness. *HortScience*, 37(4), 673–677.

- Jerić, A. (2006). Comparasion of essential oil of *Satureja* species from 1996. and 2005. year. Fakultet prirodoslovno-matematičkih znanosti i kineziologije, Sveučilište u Splitu.
- Jetter, R., & Riederer, M. (1994). Epicuticular crystals of nonacosan-10-ol: in-vitro reconstitution and factors influencing crystal habits. *Planta*, 195(2), 257–270.
- Jetter, R., & Riederer, M. (1995). In vitro Reconstitution of Epicuticular Wax Crystals: Formation of Tubular Aggregates by Long-Chain Secondary Alkanediols. *Plant Biology*, 108(2), 111–120.
- Jetter, Reinhard, & Riederer, M. (2016). Localization of the Transpiration Barrier in the Epi- and Intracuticular Waxes of Eight Plant Species: Water Transport Resistances Are Associated with Fatty Acyl Rather Than Alicyclic Components. *Plant Physiology*, 170(2), 921–934. DOI:10.1104/pp.15.01699
- Jetter, Reinhard, & Schäffer, S. (2001). Chemical composition of the *Prunus laurocerasus* leaf surface. Dynamic changes of the epicuticular wax film during leaf development. *Plant Physiology*, 126(4), 1725–1737.
- Jez, J. M., & Noel, J. P. (2002). Reaction mechanism of chalcone isomerase. *J Biol Chem*, 11, 1361–1369.
- Jez, J. M., Bowman, M. E., Dixon, R. A., & Noel, J. P. (2000). Structure and mechanism of the evolutionarily unique plant enzyme chalcone isomerase. *Nature Structural and Molecular Biology*, 7(9), 786.
- Jiang, Y., Ye, J., Li, S., & Niinemets, Ü. (2016). Regulation of Floral Terpenoid Emission and Biosynthesis in Sweet Basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(4), 921–935. DOI:10.1007/s00344-016-9591-4
- Jiang, Y., Zhao, N., Wang, F., & Chen, F. (2011). Emission and regulation of volatile chemicals from globe amaranth flowers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 136(1), 16–22.
- Jin, J., Panicker, D., Wang, Q., Kim, M. J., Liu, J., Yin, J.-L., ... Sarojam, R. (2014). Next generation sequencing unravels the biosynthetic ability of spearmint (*Mentha spicata*) peltate glandular trichomes through comparative transcriptomics. *BMC Plant Biology*, 14(1), 292.
- Joffre, R., Rambal, S., & Damesin, C. (1999). Functional attributes in Mediterranean-type ecosystems. *Handbook of Functional Plant Ecology*, 347–380.
- Jordanov, D., Kozuharov, S., & Velcev, V. (1963). *Flora Reipublicae Popularis Bulgaricae*. Academiae Scientiarum Bulgaricae.

- Jovanović, S. Č., Zlatković, B. K., & Stojanović, G. S. (2015). Distribution and Variability of *n*-Alkanes in Epicuticular Waxes of *Sedum* Species from the Central Balkan Peninsula: Chemotaxonomic Importance. *Chemistry & Biodiversity*, 12(5), 767–780.
- Junell, S. (1934). Zur Gynäceummorphologie und Systematik der Verbenaceen und Labiaten, 4, 1–129.
- Junker, R. R., & Blüthgen, N. (2010). Floral scents repel facultative flower visitors, but attract obligate ones. *Annals of Botany*, 105(5), 777–782.
- Kang, J., Park, J., Choi, H., Burla, B., Kretschmar, T., Lee, Y., & Martinoia, E. (2011). Plant ABC transporters. *The Arabidopsis Book*, e0153.
- Kannangara, R., Branigan, C., Liu, Y., Penfield, T., Rao, V., Mouille, G., ... Broun, P. (2007). The transcription factor WIN1/SHN1 regulates cutin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 19(4), 1278–1294.
- Kargar, V., Alizadeh, A., & Namayandeh, A. (2014). Essential oil constituents of *Satureja sabendica* Bornm. And *Satureja hortensis* L. cultivated in Iran. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 87, 1380–1388.
- Karousou, R., Kokkini, S., Bessière, J.-M., & Vokou, D. (1996). *Calamintha cretica* (Lamiaceae), a Cretan endemic: Distribution and essential oil composition. *Nordic Journal of Botany*, 16(3), 247–252.
- Karousou, R., Koureas, D. N., & Kokkini, S. (2005). Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*, 66(22), 2668–2673. DOI:10.1016/j.phytochem.2005.09.020
- Kerstiens, G. (1996). Cuticular water permeability and its physiological significance. *Journal of Experimental Botany*, 47(12), 1813–1832.
- Kessler, A., & Heil, M. (2011). The multiple faces of indirect defences and their agents of natural selection. *Functional Ecology*, 25(2), 348–357.
- Kidd, P. S., & Monterroso, C. (2005). Metal extraction by *Alyssum serpyllifolium* ssp. *lusitanicum* on mine-spoil soils from Spain. *Science of the Total Environment*, 336(1–3), 1–11.
- Kilic, O., & Bagci, E. (2013). An ethnobotanical survey of some medicinal plants in Keban (Elazığ-Turkey). *Medicinal Plants Research*, 1675.
- Kim, H., Lee, S. B., Kim, H. J., Min, M. K., Hwang, I., & Suh, M. C. (2012). Characterization of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein 2 (LTPG2) and overlapping function between LTPG/LTPG1 and LTPG2 in cuticular wax export or accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 53(8), 1391–1403.

- Kirimer, N., Tabanca, N., Özek, T., Tümen, G., & Baser, K. H. C. (2000). Essential oils of annual *Sideritis* species growing in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 38(2), 106–111.
- Kitić, D., Palić, R., Ristić, N., & Stojanović, G. (1999). The fatty acids and alkanes of *Satureja adamovicii* Silic and *Satureja fukarekii* Silic (NOTE). *J. Serb. Chem. Soc.*, 64(5–6), 389–392.
- Knight, T. G., Wallwork, M. A., & Sedgley, M. (2004). Leaf epicuticular wax and cuticle ultrastructure of four Eucalyptus species and their hybrids. *International Journal of Plant Sciences*, 165(1), 27–36.
- Knoll, D., & Schreiber, L. (2000). Plant–microbe interactions: wetting of ivy (*Hedera helix* L.) leaf surfaces in relation to colonization by epiphytic microorganisms. *Microbial Ecology*, 40(1), 33–42.
- Koch, K., Neinhuis, C., Ensikat, H.-J., & Barthlott, W. (2004). Self assembly of epicuticular waxes on living plant surfaces imaged by atomic force microscopy (AFM). *Journal of Experimental Botany*, 55(397), 711–718.
- Koch, K., Domisse, A., & Barthlott, W. (2006). Chemistry and crystal growth of plant wax tubules of lotus (*Nelumbo nucifera*) and nasturtium (*Tropaeolum majus*) leaves on technical substrates. *Crystal Growth & Design*, 6(11), 2571–2578.
- Koch, K., Bhushan, B., & Barthlott, W. (2008). Diversity of structure, morphology and wetting of plant surfaces. *Soft Matter*, 4(10), 1943. DOI:10.1039/b804854a
- Kocić-Tanackov, S. D., & Dimić, G. R. (2013). Antifungal activity of essential oils in the control of food-borne fungi growth and mycotoxin biosynthesis in food. *Metabolism*, 4, 5.
- Kokkini, S., & Vokou, D. (1989). *Mentha spicata* (Lamiaceae) chemotypes growing wild in Greece. *Economic Botany*, 43(2), 192–202.
- Köksal, M., Jin, Y., Coates, R. M., Croteau, R., & Christianson, D. W. (2011). Taxadiene synthase structure and evolution of modular architecture in terpene biosynthesis. *Nature*, 469(7328), 116.
- Konakchiev, A., & Tsankova, E. (2002). The Essential Oils of *Satureja montana* ssp. *kitaibelii* Wierzb. and *Satureja pilosa* var. *pilosa* Velen from Bulgaria. *Journal of Essential Oil Research*, 14(2), 120–121. DOI:10.1080/10412905.2002.9699791
- Kost, C., & Heil, M. (2006). Herbivore-induced plant volatiles induce an indirect defence in neighbouring plants. *Journal of Ecology*, 94(3), 619–628.
- Kramer, C. M., Prata, R. T., Willits, M. G., De Luca, V., Steffens, J. C., & Graser, G. (2003). Cloning and regiospecificity studies of two flavonoid glucosyltransferases from *Allium cepa*. *Phytochemistry*, 64(6), 1069–1076.

- Kremer, D., Stabentheiner, E., Dunkić, V., Müller, I. D., Vujić, L., Kosalec, I., ... Bezić, N. (2012). Micromorphological and chemotaxonomical traits of *Micromeria croatica* (Pers.) Schott. *Chemistry & Biodiversity*, 9(4), 755–768.
- Kremer, D., Dunkić, V., Ruščić, M., Matevski, V., Ballian, D., Bogunić, F., ... Stabentheiner, E. (2014). Micromorphological traits and essential oil contents of *Micromeria kernerii* Murb. and *M. juliana* (L.) Benth. (Lamiaceae). *Phytochemistry*, 98, 128–136. DOI:10.1016/j.phytochem.2013.12.009
- Kumari, S., Pundhir, S., Priya, P., Jeena, G., Punetha, A., Chawla, K., Yadav, G. (2014). EssOilDB: a database of essential oils reflecting terpene composition and variability in the plant kingdom. *Database*, 2014(0), bau120–bau120. DOI:10.1093/database/bau120
- Kundaković, T., Milenković, M., Zlatković, S., Kovacević, N., & Goran, N. (2011). Composition of *Satureja kitaibelii* essential oil and its antimicrobial activity. *Natural Product Communications*, 6(9), 1353–1356.
- Kundaković, T., Stanojković, T., Kolundzija, B., Marković, S., Sukilović, B., Milenković, M., & Lakusić, B. (2014). Cytotoxicity and antimicrobial activity of the essential oil from *Satureja montana* subsp. *pisidica* (Lamiaceae). *Natural Product Communications*, 9(4), 569–572.
- Kunst, L., & Samuels, A. . (2003). Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Progress in Lipid Research*, 42(1), 51–80. DOI:10.1016/S0163-7827(02)00045-0
- Kuntze, O. (1891). Clinopodium. In *Revisio generum plantarum vascularium omnium atque cellularium multarum secundum Leges nomenclaturae internationales cum enumeratione plantarum exoticarum in itinere mundi collectarum: Pars I-[III]*. (Vol. 2, pp. 513–516). Leipzig: A. Felix.
- Kurkcuoglu, M., Tumen, G., & Baser, K. H. C. (2001). Essential oil constituents of *Satureja boissieri* from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 37(4), 329–331.
- Kustrak, D., Kuftinec, J., Blazevic, N., & Maffei, M. (1996). Comparison of the Essential Oil Composition of Two Subspecies of *Satureja montana*. *Journal of Essential Oil Research*, 8(1), 7–13. DOI:10.1080/10412905.1996.9700546
- Lakušić, B., Ristić, M., Slavkovska, V., Antić-Stanković, J., & Milenković, M. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Satureja horvatii* Šilić (Lamiaceae). *Journal of the Serbian Chemical Society*, 73(7), 703–711.
- Lakušić, B., Ristić, M., Slavkovska, V., Milenković, M., & Lakušić, D. (2011). Environmental and seasonal impacts on the chemical composition of *Satureja horvatii* Šilić (Lamiaceae) essential oils. *Chemistry & Biodiversity*, 8(3), 483–493.

- Lakušić, B. S., Ristić, M. S., Slavkovska, V. N., Stojanović, D. L., & Lakušić, D. V. (2013^a). Variations in essential oil yields and compositions of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) at different developmental stages. *Botanica Serbica*, 37(2), 127–139.
- Lakusić, B., Lakusić, D., Ristić, M., Marcetić, M., & Slavkovska, V. (2014). Seasonal variations in the composition of the essential oils of *Lavandula angustifolia* (Lamiaceae). *Natural Product Communications*, 9(6), 859–862.
- Lakušić, D. V., Ristić, M. S., Slavkovska, V. N., Šinžar-Sekulić, J. B., & Lakušić, B. S. (2012). Environment-Related Variations of the Composition of the Essential Oils of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in the Balkan Peninsula. *Chemistry & Biodiversity*, 9(7), 1286–1302.
- Lakusić, D., Ristić, M., Slavkovska, V., & Lakusić, B. (2013^b). Seasonal variations in the composition of the essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae). *Natural Product Communications*, 8(1), 131–134.
- Lange, B. M., Wildung, M. R., Stauber, E. J., Sanchez, C., Pouchnik, D., & Croteau, R. (2000). Probing essential oil biosynthesis and secretion by functional evaluation of expressed sequence tags from mint glandular trichomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(6), 2934–2939.
- Lange, B. M., & Turner, G. W. (2013). Terpenoid biosynthesis in trichomes-current status and future opportunities. *Plant Biotechnology Journal*, 11(1), 2–22. DOI:10.1111/j.1467-7652.2012.00737.x
- Langenheim, J. H. (1994). Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*, 20(6), 1223–1280.
- Laule, O., Fürholz, A., Chang, H.-S., Zhu, T., Wang, X., Heifetz, P. B., ... Lange, M. (2003). Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(11), 6866–6871.
- Lee, S. B., Go, Y. S., Bae, H.-J., Park, J. H., Cho, S. H., Cho, H. J., ... Suh, M. C. (2009). Disruption of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein gene altered cuticular lipid composition, increased plastoglobules, and enhanced susceptibility to infection by the fungal pathogen *Alternaria brassicicola*. *Plant Physiology*, 150(1), 42–54.
- Lesburg, C. A., Huang, C., Christianson, D. W., & Fierke, C. A. (1997). Histidine→ carboxamide ligand substitutions in the zinc binding site of carbonic anhydrase II alter metal coordination geometry but retain catalytic activity. *Biochemistry*, 36(50), 15780–15791.
- Li, Y., Beisson, F., Ohlrogge, J., & Pollard, M. (2007). Monoacylglycerols are components of root waxes and can be produced in the aerial cuticle by ectopic expression of a suberin-associated acyltransferase. *Plant Physiology*, 144(3), 1267–1277.

- Lichtenthaler, H. K. (1999). The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 50(1), 47–65.
- Lincoln, D. E., & Langenheim, J. H. (1978). Effect of light and temperature on monoterpenoid yield and composition in *Satureja douglasii*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 6(1), 21–32.
- Linnaeus, C. V. (1753). *Species Plantarum* (Vol. 2). Stockholm: Impensis Laurentii Salvii.
- Linnaeus, C. V., & Murray, J. A. (1774). *Systema vegetabilium* (13th edition of *Systema Naturae*). Gottingen: typis et impensis J. C. Dieterich.
- Liu, J., Hou, J., Jiang, C., Li, G., Lu, H., Meng, F., & Shi, L. (2015). Deep Sequencing of the *Scutellaria baicalensis* Georgi Transcriptome Reveals Flavonoid Biosynthetic Profiling and Organ-Specific Gene Expression. *PLOS ONE*, 10(8), e0136397. DOI:10.1371/journal.pone.0136397
- Logemann, E., & Hahlbrock, K. (2002). Crosstalk among stress responses in plants: pathogen defense overrides UV protection through an inversely regulated ACE/ACE type of light-responsive gene promoter unit. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(4), 2428–2432.
- Long, L. M., Patel, H. P., Cory, W. C., & Stapleton, A. E. (2003). The maize epicuticular wax layer provides UV protection. *Functional Plant Biology*, 30(1), 75–81.
- López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Švarc-Gajić, J., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2015). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of a Mediterranean plant: The case of *Satureja montana* subsp. *kitaibelii*. *Journal of Functional Foods*, 18, 1167–1178. DOI:10.1016/j.jff.2014.10.023
- Ložienė, K., & Venskutonis, P. R. (2005). Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(5), 517–525. DOI:10.1016/j.bse.2004.10.004
- Lü, S., Song, T., Kosma, D. K., Parsons, E. P., Rowland, O., & Jenks, M. A. (2009). *Arabidopsis* CER8 encodes long-chain acyl-coa synthetase 1 (LACS1) that has overlapping functions with LACS2 in plant wax and cutin synthesis. *The Plant Journal*, 59(4), 553–564.
- Lukas, B., Schmiderer, C., & Novak, J. (2015). Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry*, 119, 32–40. DOI:10.1016/j.phytochem.2015.09.008
- Maede, M., Hamzeh, I., Hossein, D., Majid, A., & Reza, R. K. (2013). Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Lamiaceae) against three stored-product insect species. *African Journal of Biotechnology*, 10(34), 6620–6627.

- Maffei, M. (1994). Discriminant analysis of leaf wax alkanes in the Lamiaceae and four other plant families. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(7), 711–728.
- Maffei, M. (1996^a). Chemotaxonomic significance of leaf wax alkanes in the Gramineae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(1), 53–64.
- Maffei, M. (1996^b). Chemotaxonomic significance of leaf wax n-alkanes in the Umbelliferae, Cruciferae and Leguminosae (Subf. Papilionoideae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(6), 531–545.
- Maffei, M., Badino, S., & Bossi, S. (2004). Chemotaxonomic significance of leaf wax n-alkanes in the Pinales (Coniferales). *J. Biol. Res.*, 1, 3–19.
- Malmir, M., Gohari, A. R., Saeidnia, S., & Silva, O. (2015). A new bioactive monoterpene–flavonoid from *Satureja khuzistanica*. *Fitoterapia*, 105, 107–112. DOI:10.1016/j.fitote.2015.06.012
- Mamrutha, H. M., Mogili, T., Lakshmi, K. J., Rama, N., Kosma, D., Kumar, M. U., ... Nataraja, K. N. (2010). Leaf cuticular wax amount and crystal morphology regulate post-harvest water loss in mulberry (*Morus* species). *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(8), 690–696.
- Marin, M., Jasnić, N., Lakušić, D., Duletić-Laušević, S., & Ascensao, L. (2010). The micromorphological, histochemical and confocal analysis of *Satureja subspicata* Bartl. ex vis. glandular trichomes. *Archives of Biological Sciences*, 62(4), 1143–1149.
- Marin, M., Novaković, M., Tešević, V., Vučković, I., Milojević, N., Vuković-Gačić, B., & Marin, P. D. (2012). Antioxidative, antibacterial and antifungal activity of the essential oil of wild-growing *Satureja montana* L. from Dalmatia, Croatia: Essential oil activity of *Satureja montana* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(3), 216–223. DOI:10.1002/ffj.3082
- Marin, P. D., Jančić, R., Tatić, T., & Petković, B. (1990). Flavonoidi u listovima vrste roda *Mentha* L. i njihov taksonomski značaj (p. B1). Presented at the II Simpozijum o flori jugoistočne Srbije, Leskovac: Zbornik rezimea.
- Marin, P. D. (1996). A chemotaxonomic study of vacuolar flavonoids from some Balkan *Micromeria* Benth. species (Lamiaceae). *Archives of Biological Sciences*, 48(1–2), 49–55.
- Marin, P. D., Grayer, R. J., Veitch, N. C., Kite, G. C., & Harborne, J. B. (2001). Acacetin glycosides as taxonomic markers in *Calamintha* and *Micromeria*. *Phytochemistry*, 58(6), 943–947.
- Marin, P.D., Grayer, R. J., & Kite, G. C. (2002). External methylated flavones from *Satureja borvatii* and *S. visianii*. (p. 041). Presented at the Second Conference on medicinal and aromatic plants of Southeast European Countries, Chalkidiki-Greece: Book of Abstracts.

- Marin, P.D., Grayer, R. J., Kite, G. C., Šćekić, M., & Matevski, V. (2002). Flavonoidni aglikoni iz *Thymus rohlenae* sa Lovćena (pp. 46–47). Presented at the XXV Savetovanje o lekovitim i aromatičnim biljkama, Bajina bašta: Zbornik radova.
- Marin, P.D., Grayer, R. J., & Janačković, P. (2003). External flavonoids from *Satureja cuneifolia* and *S. adamovicii* (p. 296). Presented at the International Balkan Botanical Congress, Sarajevo: Abstracts.
- Marin, P. D., Grayer, R. J., Kite, G. C., & Matevski, V. (2003). External leaf flavonoids of *Thymus* species from Macedonia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(11), 1291–1307. DOI:10.1016/S0305-1978(03)00040-1
- Marin, P. D., Grayer, R. J., Kite, G. C., & Veljić, M. (2005). External flavones from *Thymus striatus* Vahl (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(11), 1179–1182. DOI:10.1016/j.bse.2005.06.003
- Marin, P.D., Veitch, N. C., Grayer, R. J., Kite, G. C., Soković, M., & Janačković, P. (2007). Flavonoids from *Phlomis fruticosa* (Lamiaceae) growing in Montenegro. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(7), 462–466.
- Markham, K. R., Gould, K. S., & Ryan, K. G. (2001). Cytoplasmic accumulation of flavonoids in flower petals and its relevance to yellow flower colouration. *Phytochemistry*, 58(3), 403–413.
- Markovic, T., Chatzopoulou, P., Siljegovic, J., Nikolic, M., Glamoclija, J., Ciric, A., & Sokovic, M. (2011). Chemical analysis and antimicrobial activities of the essential oils of *Satureja thymbra* L. and *Thymbra spicata* L. and their main components. *Archives of Biological Sciences*, 63(2), 457–464. DOI:10.2298/ABS1102457M
- Martens, S., & Forkmann, G. (1999). Cloning and expression of flavone synthase II from Gerbera hybrids. *The Plant Journal*, 20(5), 611–618.
- Martens, S., Forkmann, G., Matern, U., & Lukačin, R. (2001). Cloning of parsley flavone synthase I. *Phytochemistry*, 58(1), 43–46.
- Martens, S., Forkmann, G., Britsch, L., Wellmann, F., & Matern, U. (2003). Divergent evolution of flavonoid 2-oxoglutarate-dependent dioxygenases in parsley1. *FEBS Letters*, 544(93), 98.
- Martin, C. J., Haji, M. H., Dew, P. M., Pilling, M. J., & Jimack, P. K. (2011). Host selection and probing behavior of the poplar aphid *Chaitophorus leucomelas* Koch on two poplar clones with contrasting susceptibility to aphids. Retrieved from CJFR-2011-0424.pdf
- Martin, D. M., Fäldt, J., & Bohlmann, J. (2004). Functional characterization of nine Norway spruce TPS genes and evolution of gymnosperm terpene synthases of the TPS-d subfamily. *Plant Physiology*, 135(4), 1908–1927.

- Máthé Jr, I., Miklóssy, V. V., Máthé, I., Máthé, A., Bernáth, J., Oláh, L., ... Patel, A. V. (1992). Essential oil content as chemotaxonomic marker for the genus *Salvia* with reference to its variation in *Salvia officinalis* L. In WOCMAP I-Medicinal and Aromatic Plants Conference: part 4 of 4 330 (pp. 123–132).
- Maundu, P. M. (1999). Surface flavonoids and essential oil compounds in *Ocimum*, Labiatae: their economic and ecological importance and relevance in determining infrageneric taxonomic relationships.
- McConkey, M. E., Gershenzon, J., & Croteau, R. B. (2000). Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint. *Plant Physiology*, 122(1), 215–224.
- McNaught, A. D., & Wilkinson, A. (1997). Flavonoids (isoflavonoids and neoflavonoids). IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 2nd Ed.; Blackwell Scientific: Oxford, UK.
- Mendoza-Poudereux, I., Kutzner, E., Huber, C., Segura, J., Eisenreich, W., & Arrillaga, I. (2015). Metabolic cross-talk between pathways of terpenoid backbone biosynthesis in spike lavender. *Plant Physiology and Biochemistry*, 95, 113–120.
- Michaelakis, A., Theotokatos, S. A., Koliopoulos, G., & Chorianopoulos, N. G. (2007). Essential oils of *Satureja* species: insecticidal effect on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 12(12), 2567–2578.
- Mierziak, J., Kostyn, K., & Kulma, A. (2014). Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. *Molecules*, 19(10), 16240–16265. DOI:10.3390/molecules191016240
- Mihajilov-Krstev, T. (2009). Hemijski sastav i antimikrobna aktivnost etarskih ulja biljnih vrsta roda *Satureja* L. University Of Novi Sad, Novi Sad.
- Mihajilov-Krstev, T., Radnović, D., & Kitić, D. (2010). Antimicrobial activity of *Satureja* L. essential oils against phytopathogenic bacteria *Erwinia amylovora*. *Biologica Nyssana*, 1(1–2), 95–98.
- Mihaljev, D. (2011). Comparison of composition and antioxidant activity of plant species *Satureja montana* L. and *S. subspicata* Vis., Lamiaceae. Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
- Miladi, H., Ben Slama, R., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A., & Ammar, E. (2013). Chemical Composition and Cytotoxic and Antioxidant Activities of *Satureja montana* L. Essential Oil and Its Antibacterial Potential against *Salmonella* Spp. Strains. *Journal of Chemistry*, 2013, 1–9. DOI:10.1155/2013/275698
- Milenković, M. T., Božić, D. D., Slavkovska, V. N., & Lakušić, B. S. (2015). Synergistic effects of *Salvia officinalis* L. essential oils and antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Archives of Biological Sciences*, 67(3), 949–956.

- Milenković, M., Stošović, J., & Slavkovska, V. (2018). Synergy between Essential Oils of *Calamintha* species (Lamiaceae) and Antibiotics, *Natural Product Communications*, 13(3), 371–374.
- Miller, B., Madilao, L. L., Ralph, S., & Bohlmann, J. (2005). Insect-induced conifer defense. White pine weevil and methyl jasmonate induce traumatic resinosis, de novo formed volatile emissions, and accumulation of terpenoid synthase and putative octadecanoid pathway transcripts in Sitka spruce. *Plant Physiology*, 137(1), 369–382.
- Miller, P. (1754). *The Gardener's Dictionary* (4th ed.). London.
- Milos, M., Radonic, A., Bezic, N., & Dunkic, V. (2001). Localities and seasonal variations in the chemical composition of essential oils of *Satureja montana* L. and *S. cuneifolia* Ten. *Flavour and Fragrance Journal*, 16(3), 157–160. DOI:10.1002/ffj.965
- Mimura, M. R., Salatino, M. L., Salatino, A., & Baumgratz, J. F. (1998). Alkanes from foliar epicuticular waxes of *Huberia* species: Taxonomic implications. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26(5), 581–588.
- Mithöfer, A., Wanner, G., & Boland, W. (2005). Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves. II. Continuous mechanical wounding resembling insect feeding is sufficient to elicit herbivory-related volatile emission. *Plant Physiology*, 137(3), 1160–1168.
- Moein, M., Karami, F., Tavallali, H., & Ghasemi, Y. (2012). Chemical Composition of the Essential oil of *Satureja bachtiarica* Bunge. from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(4), 277–281.
- Moench, C. (1794). *Methodus plantas horti botanici et agri marburgensis , a staminum situ describendi*. Marburg: in officina nova libraria academiae.
- Mohammadhosseini, M., & Beiranvand, M. (2013). Chemical Composition of the Essential Oil From the Aerial Parts of *Satureja hortensis* As a Potent Medical Plant Using Traditional Hydrodistillation. *Journal of Chemical Health Risks*, 3(4).
- Mohammadi, P., Lotfi, N., Naseri, L., & Etebarian, H. R. (2013). Antifungal activities of essential oils from some Iranian medicinal plants against various post harvest moulds. *Medicinal Plants Research*, 1699.
- Muzac, I., Wang, J., Anzellotti, D., Zhang, H., & Ibrahim, R. K. (2000). Functional Expression of an Arabidopsis cDNA Clone Encoding a Flavonol 3'-O-Methyltransferase and Characterization of the Gene Product. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 375(2), 385–388. DOI:10.1006/abbi.1999.1681

- Naghdi Badi, H., Abdollahi, M., Mehrafarin, A., Ghorbanpour, M., Tolyat, M., Qaderi, A., & Ghiaci Yekta, M. (2017). An Overview on Two Valuable Natural and Bioactive Compounds, Thymol and Carvacrol, in Medicinal Plants. *Journal of Medicinal Plants*, 3(63), 1–32.
- Negro, C., Bellis, L. D., & Miceli, A. (2006). Composition and chemical polymorphism of essential oil in *Satureja cuneifolia* Ten.[Apulia]. *Italus Hortus*, 13.
- Newman, J. D., & Chappell, J. (1999). Isoprenoid biosynthesis in plants: carbon partitioning within the cytoplasmic pathway. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 34(2), 95–106.
- Niemeyer, H. M. (2010). Composition of Essential Oils from *Satureja darwinii* (Benth.) Briq. and *S. multiflora* (R. et P.) Briq. (Lamiaceae). Relationship Between Chemotype and Oil Yield in *Satureja* spp. *Journal of Essential Oil Research*, 22(6), 477–482. DOI:10.1080/10412905.2010.9700376
- Nikolić, B., Tesević, V., Djordjevic, I., Jadranin, M., Todosijević, M., Bojović, S., & Marin, P. D. (2010). n-Alkanes in the needle waxes of *Pinus heldreichii* var. *pančićii*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(10), 1337–1346.
- Nikolova, M., Janicsák, G., Genova, E., & Máthé, I. (2006). Comparative analysis of external flavonoids of Bulgarian and Hungarian samples of *Salvia* species. *Acta Botanica Hungarica*, 48(3–4), 361–367. DOI:10.1556/ABot.48.2006.3-4.10
- Noel, J. P. (2001). Structurally guided alteration of biosynthesis in plant type III polyketide synthases. In *Phytochemistry in the genomics and post-genomics eras* (New York, p. 197). Pergamon.
- Novak, J., Lukas, B., & Franz, C. (2010). Temperature Influences Thymol and Carvacrol Differentially in *Origanum* spp. (Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 22(5), 412–415. DOI:10.1080/10412905.2010.9700359
- Nyman, C. F. (1855). *Sylloge florae europaeae: seu Plantarum vascularium Europae indigenarum, enumeratio, adjectis synonymis gravioribus et indicata singularum distributione geographica*. Lindh: sumptu et typis NM Lindh.
- Nyman, C. F. (1881). *Conspectus florae Europaeae*. Typis Officinae Bohlinianae.
- Ogo, Y., Mori, T., Nakabayashi, R., Saito, K., & Takaiwa, F. (2016). Transgenic rice seed expressing flavonoid biosynthetic genes accumulate glycosylated and/or acylated flavonoids in protein bodies. *Journal of Experimental Botany*, 67(1), 95–106. DOI:10.1093/jxb/erv429
- Oliveira, A. F., Meirelles, S. T., & Salatino, A. (2003). Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 75(4), 431–439.

- Omidbaigi, R., Rahimi, S., & Kazemi, S. (2007). Comparison between Essential Oil Content and Compositions of Winter (Perennial) and Summer (Annual) Savory. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10(6), 480–485. DOI:10.1080/0972060X.2007.10643582
- Oshima, Y., Shikata, M., Koyama, T., Ohtsubo, N., Mitsuda, N., & Ohme-Takagi, M. (2013). MIXTA-like transcription factors and WAX INDUCER1/SHINE1 coordinately regulate cuticle development in *Arabidopsis* and *Torenia fournieri*. *The Plant Cell*, 25(5), 1609–1624.
- Ozawa, R., Shimoda, T., Kawaguchi, M., Arimura, G., Horiuchi, J., Nishioka, T., & Takabayashi, J. (2000). *Lotus japonicus* infested with herbivorous mites emits volatile compounds that attract predatory mites. *Journal of Plant Research*, 113(4), 427–433.
- Öztürk, M. (2012). Anticholinesterase and antioxidant activities of Savoury (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil. *Food Chemistry*, 134(1), 48–54. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.02.054
- Palić, R., Savić, D., Simić, N., & Anđelković, S. (1994). The alkanes from some plants of *Satureja* genus. *Facta Universitatis*, 1(1), 91–94.
- Palic, R., Simic, N., Anđelkovic, S., & Stojanovic, G. (1998). Composition of essential oil of selected Balkan's *Satureja* species and chemotaxonomic implications. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 1, 66–81.
- Palic, R., Eglinton, T. I., Benitez-Nelson, B. C., Eglinton, G., Velickovic, J., & Stojanovic, G. (1999). Alkanes from plants of the genus *Achillea*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 64(7–8), 443–446.
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 39(3), 167–170.
- Pascal, S., Bernard, A., Sorel, M., Pervent, M., Vile, D., Haslam, R. P., ... Joubès, J. (2013). The *Arabidopsis* cer26 mutant, like the cer2 mutant, is specifically affected in the very long chain fatty acid elongation process. *The Plant Journal*, 73(5), 733–746.
- Paton, A. J., Springate, D., Suddee, S., Otieno, D., Grayer, R. J., Harley, M. M., ... Savolainen, V. (2004). Phylogeny and evolution of basils and allies (Ocimeae, Labiatae) based on three plastid DNA regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31(1), 277–299. DOI:10.1016/j.ympev.2003.08.002
- Pavlovic, S., Zivanovic, P., Jancic, R., Todorovic, B., Sevarda, A. L., & Kuznjecova, G. A. (1987). The qualitative composition of the essential oil in species genus *Satureja* L.(Lamiaceae) distribution in Yugoslavia. *Biosistematika*, 13.

- Pazouki, L., & Niinemets, Ü. (2016). Multi-Substrate Terpene Synthases: Their Occurrence and Physiological Significance. *Frontiers in Plant Science*, 7. DOI:10.3389/fpls.2016.01019
- Percy, K. E., & Baker, E. A. (1990). Effects of simulated acid rain on epicuticular wax production, morphology, chemical composition and on cuticular membrane thickness in two clones of Sitka spruce [*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.]. *New Phytologist*, 116(1), 79–87.
- Pérez, I., Blázquez, M. A., & Boira, H. (2000). Chemotaxonomic value of the essential oil compounds in species of *Teucrium pumilum* aggregate. *Phytochemistry*, 55(5), 397–401.
- Peters, N. K., Frost, J. W., & Long, S. R. (1986). A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. *Science*, 233(4767), 977–980.
- Petrova Doneva, M. (2002). Comparative study of volatiles and surface flavonoids of *Salvia fruticosa* and *Salvia pomifera* in pure and mixed populations growing wild in western part of Crete.
- Petschenka, G., Fandrich, S., Sander, N., Wagschal, V., Boppré, M., & Dobler, S. (2013). Stepwise evolution of resistance to toxic cardenolides via genetic substitutions in the Na⁺/K⁺-ATPase of milkweed butterflies (Lepidoptera: Danaini). *Evolution*, 67(9), 2753–2761.
- Phillips, M. A., & Croteau, R. B. (1999). Resin-based defenses in conifers. *Trends in Plant Science*, 4(5), 184–190.
- Piccaglia, R., Marotti, M., & Galletti, G. C. (1991). Characterization of Essential Oil from a *Satureja montana* L. Chemotype Grown in Northern Italy. *Journal of Essential Oil Research*, 3(3), 147–152. <https://doi.org/10.1080/10412905.1991.9700494>
- Pichersky, E., & Raguso, R. A. (2016). Why do plants produce so many terpenoid compounds? *New Phytologist*. DOI:10.1111/nph.14178
- Pignatti, S. (1982). *Flora d'Italia*. Edagricole.
- Prasad, R. B. N., & Gulz, P. G. (1990). Developmental and seasonal variations in the epicuticular Waxes of beech leaves (*Fagus sylvatica* L.). *Zeitschrift Fur Naturforschung. Section C, Biosciences*, 45(7–8), 805–812.
- Prather, A. L., Monfils, A. K., Posto, A. L., & Williams, R. A. (2002). Monophyly and phylogeny of *Monarda* (Lamiaceae): evidence from the internal transcribed spacer (ITS) region of nuclear ribosomal DNA. *Systematic Botany*, 27(1), 127–137.
- Preuss, D., Lemieux, B., Yen, G., & Davis, R. W. (1993). A conditional sterile mutation eliminates surface components from *Arabidopsis* pollen and disrupts cell signaling during fertilization. *Genes & Development*, 7(6), 974–985.

- Prieto, J. M., Iacopini, P., Cioni, P., & Chericoni, S. (2007). In vitro activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry*, 104(3), 889–895.
- Primorac, V. (2011). Quantitative analysis of flavonoids in Croatian populations of *Satureja subspicata* Vis. *Farmaceutsko-biokemijski, Sveučilište u Zagrebu*.
- Pulsifer, I. P., Kluge, S., & Rowland, O. (2012). Arabidopsis long-chain acyl-CoA synthetase 1 (LACS1), LACS2, and LACS3 facilitate fatty acid uptake in yeast. *Plant Physiology and Biochemistry*, 51, 31–39.
- Pushpangadan, P., & Bradu, B. L. (1995). Medicinal and aromatic plants. *Advances in Horticulture*, 11, 627–657.
- Radonic, A., & Milos, M. (2003). Chemical Composition and In Vitro Evaluation of Antioxidant Effect of Free Volatile Compounds From *Satureja montana* L. *Free Radical Research*, 37(6), 673–679. <https://doi.org/10.1080/1071576031000105643>
- Radulović, N., Lazarević, J., Ristić, N., & Palić, R. (2007). Chemotaxonomic significance of the volatiles in the genus *Stachys* (Lamiaceae): Essential oil composition of four Balkan *Stachys* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(4), 196–208. DOI:10.1016/j.bse.2006.10.010
- Radulović, N. S., & Blagojević, P. D. (2010). Plant Volatiles Providing Additional Evidences to the Occurrence of a Wild-Growing Population of *Calamintha vardarensis* (Greuter et Burdet) Šilić Outside of Its Natural Habitat. *Chemistry & Biodiversity*, 7(12), 2856–2868.
- Raffaele, S., Vailleau, F., Léger, A., Joubès, J., Miersch, O., Huard, C., ... Roby, D. (2008). A MYB transcription factor regulates very-long-chain fatty acid biosynthesis for activation of the hypersensitive cell death response in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 20(3), 752–767.
- Rajčević, N. (2015). Diferencijacija vrsta iz sekcije *Juniperus* roda *Juniperus* L. (Cupressaceae) sa Balkanskog poluostrva, korišćenjem fitohemijskih i molekularnih karaktera. Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet, Beograd.
- Ramak, P. (2012). A phylogenetic analysis of *Satureja* L. (Lamiaceae: Nepetoideae) and related genera based upon nrDNA ITS and cpDNA trnL/trnF IGS sequence variation. Presented at the Conference of Molecular phylogeny of the genus *Satureja* (Lamiaceae) in Iran.
- Rasmann, S., Köllner, T. G., Degenhardt, J., Hiltpold, I., Toepfer, S., Kuhlmann, U., Turlings, T. C. (2005). Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*, 434(7034), 732.

- Rasulov, B., Talts, E., Kännaste, A., & Niinemets, Ü. (2015). Bisphosphonate inhibitors reveal a large elasticity of plastidic isoprenoid synthesis pathway in isoprene-emitting hybrid aspen. *Plant Physiology*, 168(2), 532–548.
- Rechinger, K. H., & Hedge, I. C. (1982). *Flora Iranica*. Graz: Akademische Druck Verlagsanstalt.
- Recourt, K., Schripsema, J., Kijne, J. W., van Brussel, A. A., & Lugtenberg, B. J. (1991). Inoculation of *Vicia sativa* subsp. *nigra* roots with *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* results in release of nod gene activating flavanones and chalcones. *Plant Molecular Biology*, 16(5), 841–852.
- Reddy, C. M., Eglinton, T. I., Palić, R., Benitez-Nelson, B. C., Stojanović, G., Palić, I., ... Eglinton, G. (2000). Even carbon number predominance of plant wax n-alkanes: a correction. *Organic Geochemistry*, 31(4), 331–336. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(00\)00025-5](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(00)00025-5)
- Redžić, S., Tuka, M., & Pajević, A. (2006). Research into microscopic structure and essential oils of endemic medicinal plant species *Satureja subspicata* Bartl. ex Vis.(Lamiaceae). *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 6(2), 25–31.
- Rehman, R., Hanif, M. A., Mushtaq, Z., & Al-Sadi, A. M. (2016). Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. *Food Reviews International*, 32(2), 117–160. DOI:10.1080/87559129.2015.1057841
- Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U., & Saller, R. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. *Forschende Komplementärmedizin / Research in Complementary Medicine*, 16(2), 79–90. DOI:10.1159/000207196
- Rhoades, D. G., Lincoln, D. E., & Langenheim, J. H. (1976). Preliminary studies of monoterpenoid variability in *Satureja douglasii*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 4(1), 5–12.
- Rice, R. L., Lincoln, D. E., & Langenheim, J. H. (1978). Palatability of monoterpenoid compositional types of *Satureja douglasii* to a generalist molluscan herbivore, *Ariolimax dolichophallus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 6(1), 45–53.
- Richardson, A., Franke, R., Kerstiens, G., Jarvis, M., Schreiber, L., & Fricke, W. (2005). Cuticular wax deposition in growing barley (*Hordeum vulgare*) leaves commences in relation to the point of emergence of epidermal cells from the sheaths of older leaves. *Planta*, 222(3), 472–483. DOI:10.1007/s00425-005-1552-2
- Riederer, M., & Schreiber, L. (2001). Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany*, 52(363), 2023–2032.

- Riederer, M., & Muller, C. (2008). Annual Plant Reviews, Biology of the Plant Cuticle (Vol. 23). John Wiley & Sons.
- Ristic, Z., & Jenks, M. A. (2002). Leaf cuticle and water loss in maize lines differing in dehydration avoidance. *Journal of Plant Physiology*, 159(6), 645–651.
- Rocini, C., Alves Cursino Dos Santos, D. Y., & Graham, S. (2006). *n*-Alkane distribution patterns in species of *Lythraceae sensu lato* (Myrtales). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(3), 273–274.
- Rodriguez-Saona, C., Crafts-Brandner, S. J., & Cañas, L. A. (2003). Volatile emissions triggered by multiple herbivore damage: beet armyworm and whitefly feeding on cotton plants. *Journal of Chemical Ecology*, 29(11), 2539–2550.
- Roy, N., Laskar, S., & Barik, A. (2012). Determination of *n*-alkane profile through developmental state of sunflower leaves. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences*, 30(1), 72. DOI:10.1071/SP12008
- Ruiz, H., & Pavón, J. (1794). *Florae Peruvianae, et Chilensis, Prodromus, sive novorum generum plantarum peruvianarum, et chilensium descriptiones, et icones*. Madrid: Imprenta de Sancha.
- Russo, M., Galletti, G. C., Bocchini, P., & Carnacini, A. (1998). Essential Oil Chemical Composition of Wild Populations of Italian Oregano Spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A Preliminary Evaluation of Their Use in Chemotaxonomy by Cluster Analysis. 1. Inflorescences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3741–3746.
- Rustaiyan, A., Feizbakhsh, A., Masoudi, S., & Ameri, N. (2004). Comparison of the Volatile Oils of *Satureja atropatana* Bung. and *Satureja mutica* Fisch. et C.A. Mey. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 16(6), 594–596. DOI:10.1080/10412905.2004.9698806
- Ryan, K. G., Swinny, E. E., Markham, K. R., & Winefield, C. (2002). Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry*, 59(1), 23–32.
- Sachse, D., Radke, J., & Gleixner, G. (2004). Hydrogen isotope ratios of recent lacustrine sedimentary *n*-alkanes record modern climate variability. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68(23), 4877–4889.
- Sadowsky, M. J., Cregan, P. B., & Keyser, H. H. (1988). Nodulation and nitrogen fixation efficacy of *Rhizobium fredii* with *Phaseolus vulgaris* genotypes. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(8), 1907–1910.
- Saeidnia, S., Gohari, A. R., Manayi, A., & Kourepaz-Mahmoodabadi, M. (2016). *Satureja*: Ethnomedicine, Phytochemical Diversity and Pharmacological Activities. Springer.

- Salatino, M. L., Salatino, A., L de Menezes, N., & de Mello-Silva, R. (1989). Alkanes of foliar epicuticular waxes of Velloziaceae. *Phytochemistry*, 28(4), 1105–1114.
- Salehi-Arjmand, H., Hadian, J., Khadivi-Khub, A., & Akramian, M. (2014). Comparative analysis of essential oil compositions in seven populations of Bakhtiarian savory in natural and field conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(5), 1107–1114.
- Salgueiro, L., Vila, R., Tomas, X., Tomi, F., Cañigüeral, S., Casanova, J., ... Adzet, T. (1995). Chemical polymorphism of the essential oil of *Thymus carnosus* from Portugal. *Phytochemistry*, 38(2), 391–396.
- Salimpour, F., Mazooji, A., & Darzikolaei, S. A. (2011). Chemotaxonomy of six *Salvia* species using essential oil composition markers. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(9), 1795–1805.
- Samuels, L., Kunst, L., & Jetter, R. (2008). Sealing Plant Surfaces: Cuticular Wax Formation by Epidermal Cells. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 683–707. DOI:10.1146/annurev.arplant.59.103006.093219
- Sasaki, K., & Takahashi, T. (2002). A flavonoid from *Brassica rapa* flower as the UV-absorbing nectar guide. *Phytochemistry*, 61(3), 339–343.
- Săvulescu, T. (1976). *Flora Republicii Populare Române* (Vol. 13). Editura Academiei Republicii Populare Române.
- Scheele, G. H. A. (1843). Beiträge zur deutschen und schweizerischen Flora. *Allgem.Bot.Zeit.* 26, 557–586.
- Schefuß, E., Ratmeyer, V., Stuut, J.-B. W., Jansen, J. H., & Sinninghe Damsté, J. S. (2003). Carbon isotope analyses of n-alkanes in dust from the lower atmosphere over the central eastern Atlantic. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(10), 1757–1767.
- Schischkin, B. K. (1954). *Flora URSS. Editio Academiae scientiarum URSS*, Mosqua, Leningrad, Vol. 21
- Schnee, C., Köllner, T. G., Held, M., Turlings, T. C., Gershenzon, J., & Degenhardt, J. (2006). The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4), 1129–1134.
- Schneider-Belhaddad, F., & Kolattukudy, P. (2000). Solubilization, partial purification, and characterization of a fatty aldehyde decarbonylase from a higher plant, *Pisum sativum*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 377(2), 341–349.

- Schwechheimer, C., & Bevan, M. (1998). The regulation of transcription factor activity in plants. *Trends in Plant Science*, 3(10), 378–383.
- Sefidkon, F., Jamzad, Z., & Mirza, M. (2004). Chemical variation in the essential oil of *Satureja sabendica* from Iran. *Food Chemistry*, 88(3), 325–328. DOI:10.1016/j.foodchem.2003.12.044
- Sefidkon, F., & Jamzad, Z. (2005). Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*). *Food Chemistry*, 91(1), 1–4. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.01.027
- Sefidkon, Fatemeh, Abbasi, K., & Khaniki, G. B. (2006). Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*, 99(1), 19–23.
- Sefidkon, Fatemeh, Abbasi, K., Jamzad, Z., & Ahmadi, S. (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. *Food Chemistry*, 100(3), 1054–1058.
- Senatore, F., De Fusco, R., & De Feo, V. (1997). Essential Oils from *Salvia* spp. (Lamiaceae). I. Chemical Composition of the Essential Oils from *Salvia glutinosa* L. Growing Wild in Southern Italy. *Journal of Essential Oil Research*, 9(2), 151–157. DOI:10.1080/10412905.1997.9699452
- Seo, Pil Joon, & Park, C.-M. (2011). Cuticular wax biosynthesis as a way of inducing drought resistance. *Plant Signaling & Behavior*, 6(7), 1043–1045. DOI:10.4161/psb.6.7.15606
- Seo, P. J., Lee, S. B., Suh, M. C., Park, M.-J., Go, Y. S., & Park, C.-M. (2011). The MYB96 Transcription Factor Regulates Cuticular Wax Biosynthesis under Drought Conditions in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 23(3), 1138–1152. DOI:10.1105/tpc.111.083485
- Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., ... Marques, A. (2011). Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(9), 1554–1560. DOI:10.1002/jsfa.4347
- Sharafzadeh, S. (2014). Comparison of the Main Essential Oil Components of Different Species of *Satureja* from Iran: A Review. *Applied Science Reports*, 2(1). DOI:10.15192/PSCP.ASR.2014.2.1.13
- Sharkey, T. D., & Singsaas, E. L. (1995). Why plants emit isoprene. *Nature*, 374(6525), 769–769.
- Sharkey, T. D., Yeh, S., Wiberley, A. E., Falbel, T. G., Gong, D., & Fernandez, D. E. (2005). Evolution of the isoprene biosynthetic pathway in kudzu. *Plant Physiology*, 137(2), 700–712.

- Silva, F. V. M., Martins, A., Salta, J., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Mira, D., ... Rauter, A. P. (2009). Phytochemical Profile and Anticholinesterase and Antimicrobial Activities of Supercritical versus Conventional Extracts of *Satureja montana*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(24), 11557–11563. DOI:10.1021/jf901786p
- Skaltsa, H. D., Mavrommati, A., & Constantinidis, T. (2001). A chemotaxonomic investigation of volatile constituents in *Stachys* subsect. Swainsonianeae (Labiatae). *Phytochemistry*, 57(2), 235–244.
- Skočibušić, M., & Bezić, N. (2004). Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of two *Satureja* species essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(12), 967–970. DOI:10.1002/ptr.1489
- Skocibusic, M., Bezic, N., & Dunkic, V. (2004). Variability of *Satureja cuneifolia* Ten. essential oils and their antimicrobial activity depending on the stage of development. *European Food Research and Technology*, 218(4), 367–371. DOI:10.1007/s00217-003-0871-4
- Skočibušić, M., Bezic, N., & Dunkic, V. (2006). Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. *Food Chemistry*, 96(1), 20–28. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.01.051
- Skoula, M., El Hilali, I., & Makris, A. M. (1999). Evaluation of the genetic diversity of *Salvia fruticosa* Mill. clones using RAPD markers and comparison with the essential oil profiles. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(6), 559–568.
- Skoula, M., & Grayer, R. J. (2005). Volatile oils of *Coridothymus capitatus*, *Satureja thymbra*, *Satureja spinosa* and *Thymbra calostachya* (Lamiaceae) from Crete. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(6), 573–576. DOI:10.1002/ffj.1489
- Skoula, M., Grayer, R. J., & Kite, G. C. (2005). Surface flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja spinosa* (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(5), 541–544. DOI:10.1016/j.bse.2004.10.003
- Skoula, M., Melpomene, Grayer, R. J., Kite, G. C., & Veitch, N. C. (2008). Exudate flavones and flavanones in *Origanum* species and their interspecific variation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(8), 646–654. DOI:10.1016/j.bse.2008.05.003
- Slavkovska, V., Jancic, R., Milosavljevic, S., & Djokovic, D. (1997). Variability of the Essential Oil Composition of the Species *Satureja montana* L. (Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 9(6), 629–634. DOI:10.1080/10412905.1997.9700801
- Slavkovska, V., Jancic, R., Bojovic, S., Milosavljevic, S., & Djokovic, D. (2001). Variability of essential oils of *Satureja montana* L. and *Satureja kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. from the central part of the Balkan peninsula. *Phytochemistry*, 57(1), 71–76.

- Slavkovska, V., Couladis, M., Bojovic, S., Tzakou, O., Pavlovic, M., Lakusic, B., & Jancic, R. (2005). Essential oil and its systematic significance in species of *Micromeria* Benthham from Serbia & Montenegro. *Plant Systematics and Evolution*, 255(1–2), 1–15. DOI:10.1007/s00606-005-0303-y
- Slavkovska, V., Zlatković, B., Bräuchler, C., Stojanović, D., Tzakou, O., & Couladis, M. (2013). Variations of essential oil characteristics of *Clinopodium pulegium* (Lamiaceae) depending on phenological stage. *Bot Serb*, 37(2), 97–104.
- Smith, D. G., Mayes, R. W., & Raats, J. G. (2001). Effect of species, plant part, and season of harvest on *n*-alkane concentrations in the cuticular wax of common rangeland grasses from southern Africa. *Crop and Pasture Science*, 52(9), 875–882.
- Sombrero, C. (1992). Environmental control of essential oil production in Mediterranean plants. University of Reading.
- Sonboli, A., Fakhari, A., Kanani, M. R., & Yousefzadi, M. (2004). Antimicrobial activity, essential oil composition and micromorphology of trichomes of *Satureja laxiflora* C. Koch from Iran. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 59(11–12), 777–781.
- Springob, K., Nakajima, J., Yamazaki, M., & Saito, K. (2003). Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins. *Natural Product Reports*, 20(3), 288–303.
- Stanic, G., Petricic, J., & Blazevic, N. (1991). Gas Chromatographic Investigations of Essential Oils of *Satureja montana* and *Satureja subspicata* from Yugoslavia. *Journal of Essential Oil Research*, 3(3), 153–158. DOI:10.1080/10412905.1991.9700495
- Steele, C. L., Katoh, S., Bohlmann, J., & Croteau, R. (1998). Regulation of oleoresinosis in grand fir (*Abies grandis*): differential transcriptional control of monoterpene, sesquiterpene, and diterpene synthase genes in response to wounding. *Plant Physiology*, 116(4), 1497–1504.
- Strid, P. A. K., Strid, A., & Tan, K. (1986). *Mountain Flora of Greece*. Cambridge University Press.
- Sun, L., Fan, X., Zhang, Y., Jiang, J., Sun, H., & Liu, C. (2016). Transcriptome analysis of genes involved in anthocyanins biosynthesis and transport in berries of black and white spine grapes (*Vitis davidii*). *Hereditas*, 153(1). DOI:10.1186/s41065-016-0021-1
- Suzuki, M., Kamide, Y., Nagata, N., Seki, H., Ohyama, K., Kato, H., ... Tabata, S. (2004). Loss of function of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase 1 (HMG1) in *Arabidopsis* leads to dwarfing, early senescence and male sterility, and reduced sterol levels. *The Plant Journal*, 37(5), 750–761.

- Svoboda, K. P., Hay, R. K., & Waterman, P. G. (1990). Growing summer savory (*Satureja hortensis*) in Scotland: Quantitative and qualitative analysis of the volatile oil and factors influencing oil production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53(2), 193–202.
- Šavikin, K. P., Menković, N. R., Zdunić, G. M., Tasić, S. R., Ristić, M. S., Stević, T. R., & Dajić-Stevanović, Z. P. (2010). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch., *M. dalmatica* Benth., and *Satureja cuneifolia* Ten. and Its Secretory Elements. *Journal of Essential Oil Research*, 22(1), 91–96. DOI:10.1080/10412905.2010.9700271
- Ševarda, A. L., Kuznjegova, G. A., Zivanovic, P., Pavlovic, S., & Vujcic, S. (1989). Sastav etarskog ulja nekih populacija vrste *Satureja kitaibelii* Wierzb. et Heuf., *Arhiv za farmaciju*, 5, 159–162.
- Šilić, Č. (1979). Monografija rodova *Satureja* L., *Calamintha* Miller, *Micromeria* Benth., *Acinos* Miller i *Clinopodium* L. u flori Jugoslavije. Zemaljski muzej BiH.
- Šoštarić, I. I. (2012). Fitohemijska i genetička varijabilnost vrsta iz sekcije Serpyllum (Mill.) Benth. roda *Thymus* L.(Lamiaceae) u Srbiji. Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet.
- Taban, A., Saharkhiz, M. J., & Hadian, J. (2013). Allelopathic potential of essential oils from four *Satureja* spp. *Biological Agriculture & Horticulture*, 29(4), 244–257.
- Tabassum, N. (2014). Antifungal investigations on plant essential oils. A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5 (2), 19–28
- Tajali, A., Mehrabi, H., & Larijani, K. (2013). Comparison Of Chemical Composition Of Essential Oil Of *Satureja hortensis* L. In Field And Natural Habitat In Nahavand Area.
- Takhtajan, A. (2009). *Flowering plants*. Springer Science & Business Media.
- Tarasov, P. E., Müller, S., Zech, M., Andreeva, D., Diekmann, B., & Leipe, C. (2013). Last glacial vegetation reconstructions in the extreme-continental eastern Asia: Potentials of pollen and n-alkane biomarker analyses. *Quaternary International*, 290–291, 253–263. DOI:10.1016/j.quaint.2012.04.007
- Tepe, B., & Cilkiz, M. (2016). A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja*. *Pharmaceutical Biology*, 54(3), 375–412. DOI:10.3109/13880209.2015.1043560
- Terry, I., Walter, G. H., Moore, C., Roemer, R., & Hull, C. (2007). Odor-mediated push-pull pollination in cycads. *Science*, 318(5847), 70–70.

- Tholl, D., Chen, F., Petri, J., Gershenzon, J., & Pichersky, E. (2005). Two sesquiterpene synthases are responsible for the complex mixture of sesquiterpenes emitted from *Arabidopsis* flowers. *The Plant Journal*, 42(5), 757–771.
- Tholl, D. (2006). Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 297–304. DOI:10.1016/j.pbi.2006.03.014
- Thompson, J. D. (2005). *Plant evolution in the Mediterranean*. Oxford University Press on Demand.
- Tomás-Barberán, F. A., Rejdali, M., Harborne, J. B., & Heywood, V. H. (1988). External and vacuolar flavonoids from Ibero-North African *Sideritis* species. A chemosystematic approach. *Phytochemistry*, 27(1), 165–170.
- Tomás-Barberán, F. A., Husain, S. Z., & Gil, M. I. (1988). The distribution of methylated flavones in the Lamiaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 16(1), 43–46.
- Tomás-Barberán, F. A., & Wollenweber, E. (1990). Flavonoid aglycones from the leaf surfaces of some Labiatae species. *Plant Systematics and Evolution*, 173(3–4), 109–118.
- Tomas-Barberan, F. A., Gil, M. I., Marin, P. D., & Tomas-Lorente, F. (1991). Flavonoids from some Yugoslavian *Micromeria* species: Chemotaxonomical aspects. *Biochemical Systematics and Ecology*, 19(8), 697–698. DOI:10.1016/0305-1978(91)90088-H
- Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Ferreres, F., & Tomás-Lorente, F. (1991). Correlations between flavonoid composition and infrageneric taxonomy of some European *Galeopsis* species. *Phytochemistry*, 30(10), 3311–3314.
- Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Ferreres, F., Rivera, D., Obón, C., & Tomás-Lorente, F. (1993). Distribution of 8-Hydroxyflavone glycosides and flavonoid aglycones in some Spanish *Sideritis* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21(4), 487–497. DOI:10.1016/0305-1978(93)90108-4
- Tomás-Lorente, F., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A., Rivera, D., & Obon, C. (1988). Some flavonoids and the diterpene borjatriol from some Spanish *Sideritis* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 16(1), 33–42.
- Tommasi, L., Negro, C., De Bellis, L., & Miceli, A. (2008). Essential Oil Variability of *Satureja cuneifolia* Ten. Growing Wild in Southern Puglia (Italy). *Journal of Essential Oil Research*, 20(4), 295–302. DOI:10.1080/10412905.2008.9700017

- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation: Bioactivities and applications of essential oils. *Journal of Food Science*, 79(7), R1231–R1249. DOI:10.1111/1750-3841.12492
- Trapp, S. C., & Croteau, R. B. (2001). Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. *Genetics*, 158(2), 811–832.
- Trusty, J. L., Olmstead, R. G., Bogler, D. J., Santos-Guerra, A., & Francisco-Ortega, J. (2004). Using molecular data to test a biogeographic connection of the Macaronesian genus *Bystropogon* (Lamiaceae) to the New World: a case of conflicting phylogenies. *Systematic Botany*, 29(3), 702–715.
- Tulloch, A. P. (1981). Composition of epicuticular waxes from 28 genera of Gramineae: differences between subfamilies. *Canadian Journal of Botany*, 59(7), 1213–1221. DOI:10.1139/b81-166
- Turunen, M., Huttunen, S., Percy, K. E., McLaughlin, C. K., & Lamppu, J. (1997). Epicuticular wax of subarctic Scots pine needles: response to sulphur and heavy metal deposition. *New Phytologist*, 135(3), 501–515.
- Tuttolomondo, T., Leto, C., Leone, R., Licata, M., Virga, G., Ruberto, G., ... La Bella, S. (2014). Essential oil characteristics of wild Sicilian oregano populations in relation to environmental conditions. *Journal of Essential Oil Research*, 26(3), 210–220.
- Tzakou, O., & Constantinidis, T. (2005). Chemotaxonomic significance of volatile compounds in *Thymus samius* and its related species *Thymus atticus* and *Thymus parnassicus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(11), 1131–1140. DOI:10.1016/j.bse.2005.03.008
- Ulubelen, A., Topcu, G., & Kolak, U. (2005). Labiatae flavonoids and their bioactivity. *Studies in Natural Products Chemistry*, 30, 233–302.
- Upson, T. M., Grayer, R. J., Greenham, J. R., Williams, C. A., Al-Ghamdi, F., & Chen, F.-H. (2000). Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(10), 991–1007.
- Vagionas, K., Graikou, K., Ngassapa, O., Runyoro, D., & Chinou, I. (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of three *Satureja* species growing in Tanzania. *Food Chemistry*, 103(2), 319–324. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.07.051
- Valant-Vetschera, K. M., Roitman, J. N., & Wollenweber, E. (2003). Chemodiversity of exudate flavonoids in some members of the Lamiaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(11), 1279–1289. DOI:10.1016/S0305-1978(03)00037-1

- Velasco-Negueruela, A., & Pérez-Alonso, M. J. (1990). The volatiles of six *Teucrium* species from the Iberian Peninsula and the Balearic Islands. *Phytochemistry*, 29(4), 1165–1169.
- Vidic, D., Maksimovic, M., Cavar, S., & Solic, M. E. (2009). Comparison of Essential Oil Profiles of *Satureja montana* L. and Endemic *Satureja visianii* Šilic. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(3), 273–281. DOI:10.1080/0972060X.2009.10643720
- Vieira, R. F., Grayer, R. J., Paton, A., & Simon, J. E. (2001). Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(3), 287–304.
- Vieira, R. F., Grayer, R. J., & Paton, A. J. (2003). Chemical profiling of *Ocimum americanum* using external flavonoids. *Phytochemistry*, 63(5), 555–567. DOI:10.1016/S0031-9422(03)00143-2
- Viljoen, A. M., Gono-Bwalya, A., Kamatou, G. P., Başer, K. H. C., & Demirci, B. (2006). The Essential Oil Composition and Chemotaxonomy of *Salvia stenophylla* and its Allies *S. repens* and *S. runcinata*. *Journal of Essential Oil Research*, 18.
- Visiani, R. D. (1847). *Flora dalmatica*, vol. 2. Hofmeister, Lipsia.
- Vogt, T., Pollak, P., Tarlyn, N., & Taylor, L. P. (1994). Pollination-or wound-induced kaempferol accumulation in petunia stigmas enhances seed production. *The Plant Cell*, 6(1), 11–23.
- Voirin, B., & Bayet, C. (1992). Developmental variations in leaf flavonoid aglycones of *Mentha x piperita*. *Phytochemistry*, 31(7), 2299–2304.
- Voirin, B., Saunois, A., & Bayet, C. (1994). Free flavonoid aglycones from *Mentha x piperita*: developmental, chemotaxonomical and physiological aspects. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(1), 95–99.
- Voirin, B., Bayet, C., Faure, O., & Jullien, F. (1999). Free flavonoid aglycones as markers of parentage in *Mentha aquatica*, *M. citrata*, *M. spicata* and *M. x piperita*. *Phytochemistry*, 50(7), 1189–1193.
- Vokou, D., & Margaritis, N. S. (1986). Variation of volatile oil concentration of Mediterranean aromatic shrubs *Thymus capitatus* Hoffm. et Link., *Satureja thymbra* L., *Teucrium polium* L. and *Rosmarinus officinalis*. *International Journal of Biometeorology*, 30(2), 147–155.
- Vokou, Despina, Kokkini, S., & Bessiere, J.-M. (1993). Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21(2), 287–295.
- von Wettstein-Knowles, P. M. (1982). Elongase and epicuticular wax biosynthesis. *Physiol Veg*, 20, 797–809.
- von Wettstein-Knowles, P. (1993). Waxes, cutin and suberin. *Lipid Metabolism in Plants*, 127–166.

- Vundac, V. B., Pfeifhofer, H. W., Brantner, A. H., Males, Z., & Plazibat, M. (2006). Essential oils of seven *Stachys* taxa from Croatia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(12), 875–881. DOI:10.1016/j.bse.2006.04.010
- Wagstaff, S. J., Olmstead, R. G., & Cantino, P. D. (1995). Parsimony Analysis of cpDNA Restriction Site Variation in Subfamily Nepetoideae (Labiatae). *American Journal of Botany*, 82(7), 886. DOI:10.2307/2445975
- Wagstaff, S. J., Hickerson, L., Spangler, R., Reeves, P. A., & Olmstead, R. G. (1998). Phylogeny in Labiatae sl, inferred from cpDNA sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 209(3–4), 265–274.
- Walker, Jay B., Sytsma, K. J., Treutlein, J., & Wink, M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91(7), 1115–1125.
- Walker, J. B., & Sytsma, K. J. (2007). Staminal Evolution in the Genus *Salvia* (Lamiaceae): Molecular Phylogenetic Evidence for Multiple Origins of the Staminal Lever. *Annals of Botany*, 100(2), 375–391. DOI:10.1093/aob/mcl176
- Walton, D. A. (2005). Ultrastructure of *Macadamia* (Proteaceae) Embryos: Implications for their Breakage Properties. *Annals of Botany*, 96(6), 981–988. DOI:10.1093/aob/mci265
- Wang, S. F., Ridsdill-Smith, T. J., & Ghisalberti, E. L. (1998). Role of isoflavonoids in resistance of subterranean clover trifoliate to the redlegged earth mite *Halotydeus destructor*. *Journal of Chemical Ecology*, 24(12), 2089–2100.
- Waterman, P. G., & Gray, A. I. (1987). Chemical systematics. *Natural Product Reports*, 4, 175–203.
- Wei, K., & Jia, G. (2009). Soil n -alkane $\delta^{13}\text{C}$ along a mountain slope as an integrator of altitude effect on plant species $\delta^{13}\text{C}$. *Geophysical Research Letters*, 36(11). DOI:10.1029/2009GL038294
- Wijsman, H. J. W. (1983). On the interrelationships of certain species of *Petunia* II. Experimental data: Crosses between different taxa. *Plant Biology*, 32(1–2), 97–107.
- Willdenow, C. L. (1811). *Xenopoma*. In *Mag. Neuesten Entdeck. Gesammten Naturk. Ges. Naturf. Freunde Berlin* (Vol. 5, p. 399). Berlin.
- Wissemann, V. (2000). Epicuticular wax morphology and the taxonomy of *Rosa* (section *Caninae*, subsection *Rubiginosae*). *Plant Systematics and Evolution*, 221(1–2), 107–112.
- Wollenweber, E., & Valant-Vetschera, K. M. (1991). External flavonoids of *Satureja montana*. *Fitoterapia*, 62, 462.

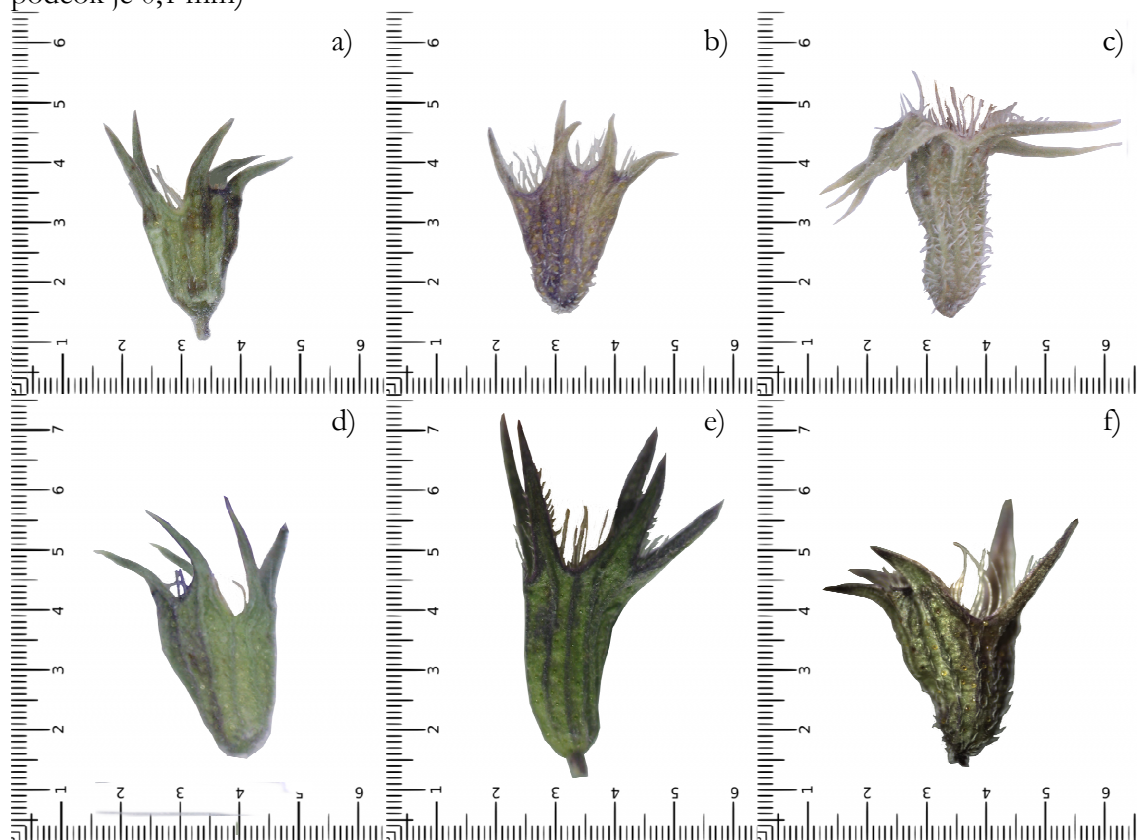
- Wunderlich, R. (1967). Ein Vorschlag zu einer natürlichen Gliederung der Labiaten auf Grund der Pollenkörner, der Samenentwicklung und des reifen Samens. Oesterreichische Botanische Zeitschrift, 114(4–5), 383–483.
- Xia, Y., Nikolau, B. J., & Schnable, P. S. (1997). Developmental and hormonal regulation of the Arabidopsis CER2 gene that codes for a nuclear-localized protein required for the normal accumulation of cuticular waxes. Plant Physiology, 115(3), 925–937.
- Xie, Z., Kapteyn, J., & Gang, D. R. (2008). A systems biology investigation of the MEP/terpenoid and shikimate/phenylpropanoid pathways points to multiple levels of metabolic control in sweet basil glandular trichomes. The Plant Journal, 54(3), 349–361.
- Xu, M., Hillwig, M. L., Prsic, S., Coates, R. M., & Peters, R. J. (2004). Functional identification of rice syn-copalyl diphosphate synthase and its role in initiating biosynthesis of diterpenoid phytoalexin/allelopathic natural products. The Plant Journal, 39(3), 309–318.
- Xu, Y. H., Wang, J. W., Wang, S., Wang, J. Y., & Chen, X. Y. (2004). Characterization of GaWRKY1, a cotton transcription factor that regulates the sesquiterpene synthase gene (+)- δ -cadinene synthase-A. Plant Physiology, 135(1), 507–515.
- Yadav, R. K. P., Karamanoli, K., & Vokou, D. (2005). Bacterial Colonization of the Phyllosphere of Mediterranean Perennial Species as Influenced by Leaf Structural and Chemical Features. Microbial Ecology, 50(2), 185–196. DOI:10.1007/s00248-004-0171-y
- Yeats, T. H., & Rose, J. K. C. (2013). The Formation and Function of Plant Cuticles. Plant Physiology, 163(1), 5–20. DOI:10.1104/pp.113.222737
- Yousif, A. N., Scaman, C. H., Durance, T. D., & Girard, B. (1999). Flavor volatiles and physical properties of vacuum-microwave-and air-dried sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(11), 4777–4781.
- Zheng, H. (2005). Disruptions of the *Arabidopsis* Enoyl-CoA Reductase Gene Reveal an Essential Role for Very-Long-Chain Fatty Acid Synthesis in Cell Expansion during Plant Morphogenesis. The Plant Cell Online, 17(5), 1467–1481. DOI:10.1105/tpc.104.030155
- Zimmerman, P. R., Greenberg, J. P., & Westberg, C. E. (1988). Measurements of atmospheric hydrocarbons and biogenic emission fluxes in the Amazon boundary layer. Journal of Geophysical Research: Atmospheres, 93(D2), 1407–1416.
- Zimmermann, Y., Roubik, D. W., & Eltz, T. (2006). Species-specific attraction to pheromonal analogues in orchid bees. Behavioral Ecology and Sociobiology, 60(6), 833.

- Zygadlo, J. A., Maestri, D. M., & Grosso, N. R. (1994). Alkane distribution in epicuticular wax of some Solanaceae species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(2), 203–209.

8. Prilozi

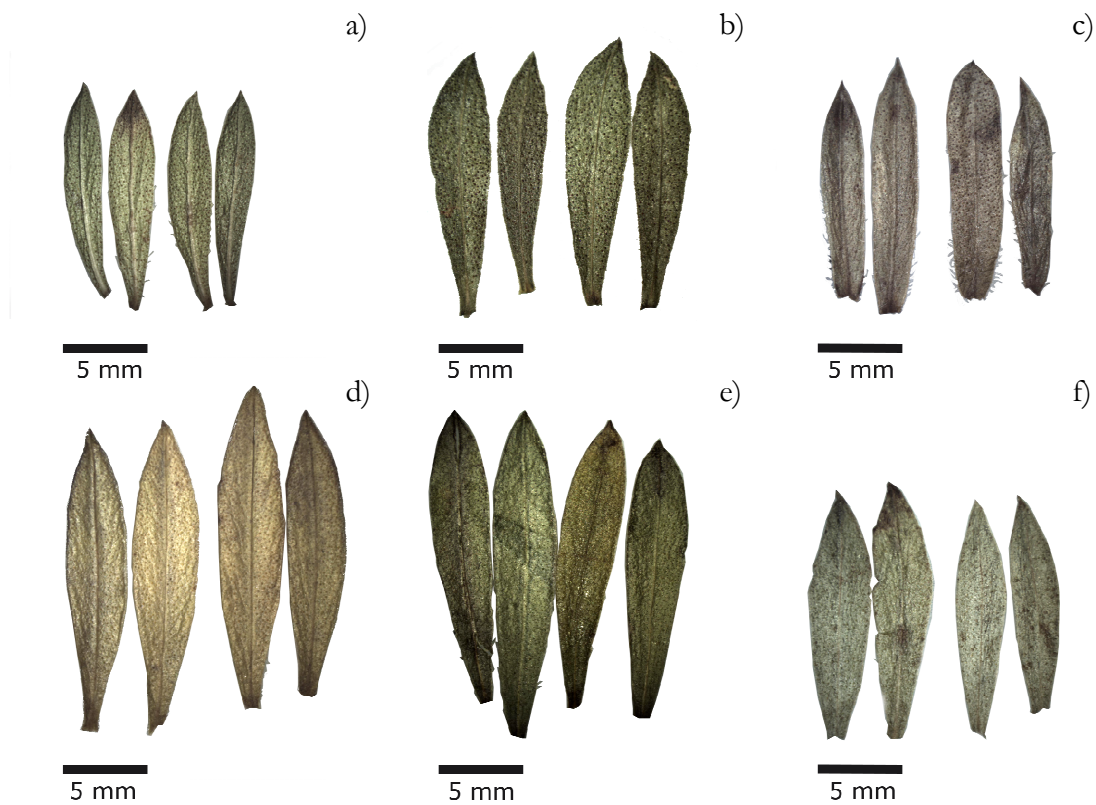
Prilog A1. Upredni prikaz merenih čašica kod proučavanih taksona roda *Satureja*:

a) *S. montana* ssp. *variegata*; b) *S. montana* ssp. *montana*; c) *S. montana* ssp. *pisidica*; d) *S. kitaibelii*; e) *S. subspicata* ssp. *liburnica*; f) *S. subspicata* ssp. *subspicata*; skala je u mm (jedan podeok je 0,1 mm)

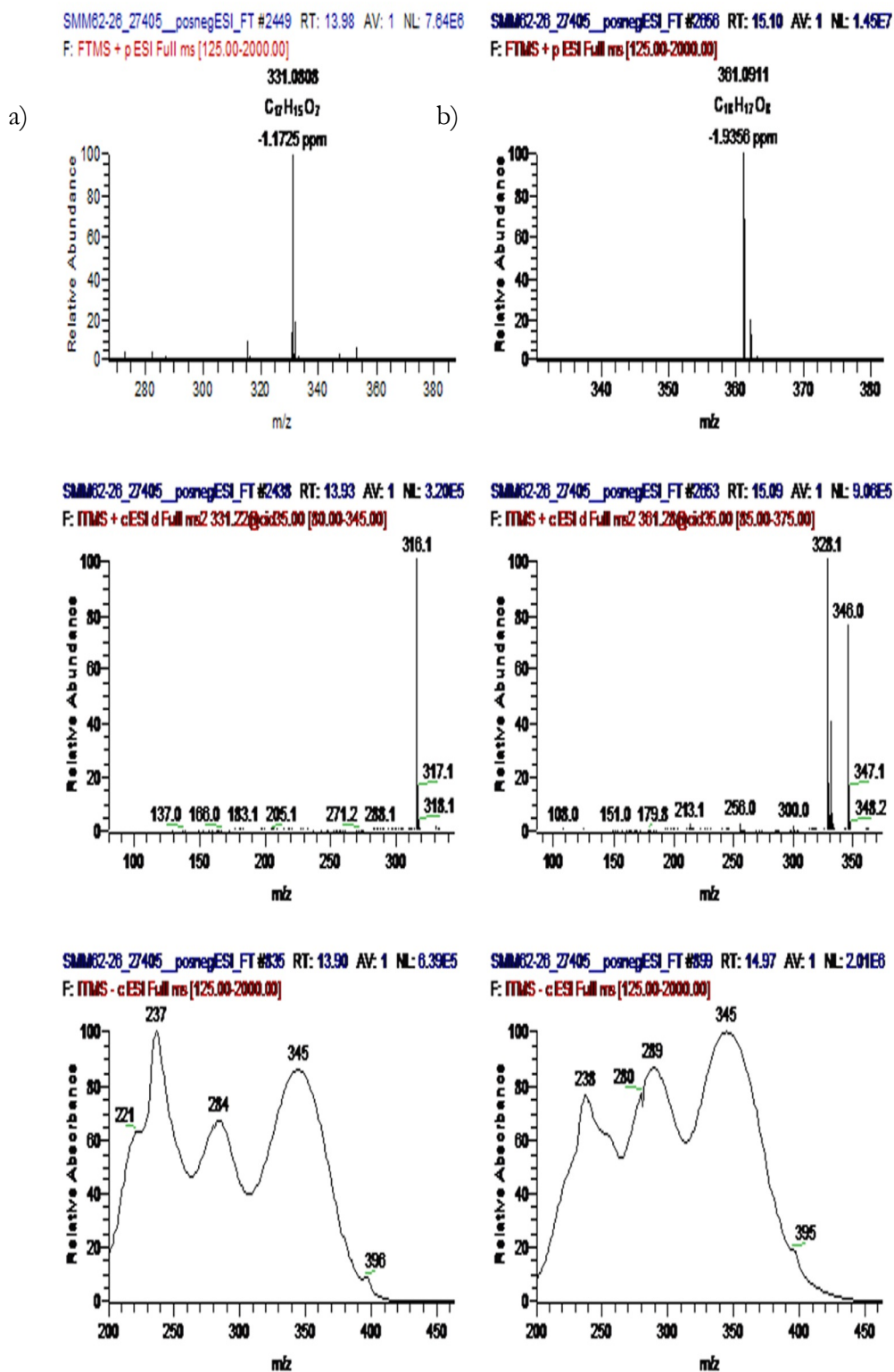


Prilog A2. Upredni prikaz merenih listova kod proučavanih taksona roda *Satureja*:

a) *S. montana* ssp. *variegata*; b) *S. montana* ssp. *montana*; c) *S. montana* ssp. *pisidica*; d) *S. kitaibelii*; e) *S. subspicata* ssp. *liburnica*; f) *S. subspicata* ssp. *subspicata*

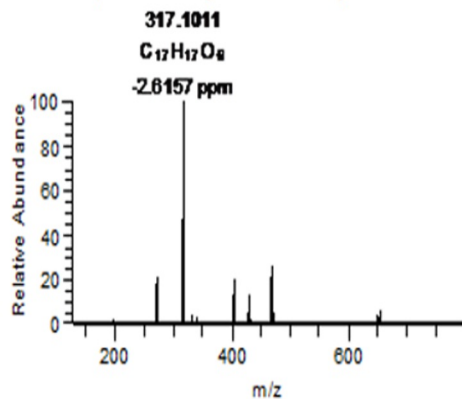


Prilog B1. LC-MS hromatogrami i UV i MS spektri pojedinačnih flavonoida izolovanih sa površine listova proučavanih taksona roda *Satureja*; a) 5,6,4'-triOH-7,3'-diOMe; b) timonin

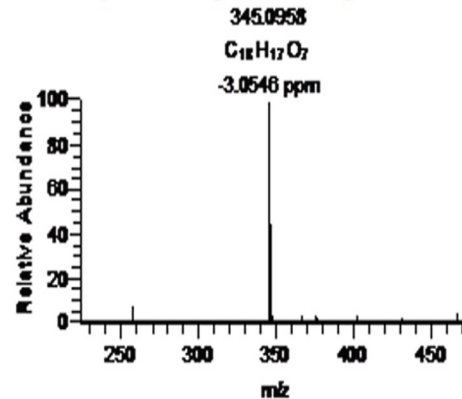


Prilog B2. LC-MS hromatogrami i UV i MS spektri pojedinačnih flavonoida izolovanih sa površine listova proučavanih taksona roda *Satureja*; a) 5,4'-diOH-6,7-diOMe-flavanon; b) 5,6-diOH-7,3'4'-triMe flavon

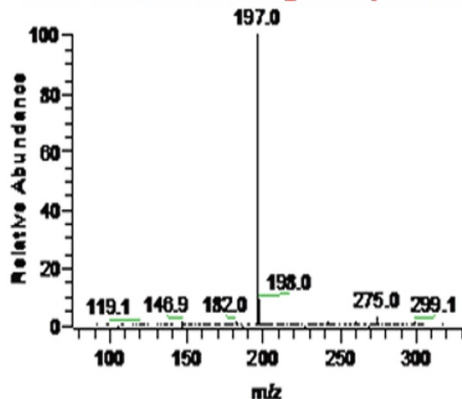
SK103-02_27407_posnegESI_FT #2850 RT: 15.18 AV: 1
F: FTMS + p ESI Full ms [125.00-2000.00]



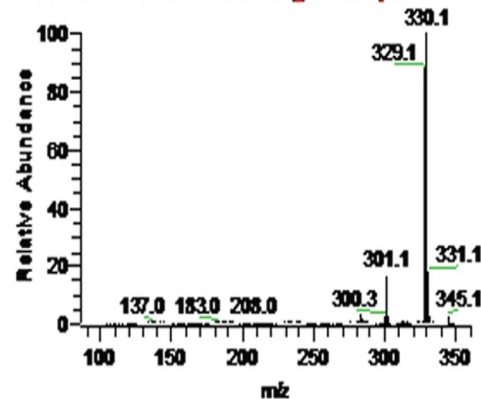
SK103-23_27404_posnegESI_FT #2574 RT: 15.38 AV: 1
F: FTMS + p ESI Full ms [125.00-2000.00]



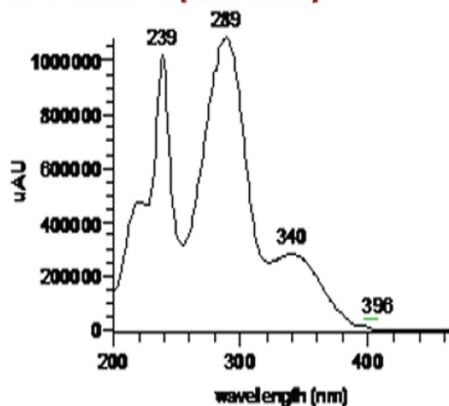
SK103-02_27407_posnegESI_FT #2874 RT: 15.30 AV: 1
F: FTMS + c ESI d Full ms 2 317.36 @cid35.00 [75.00-330.00]



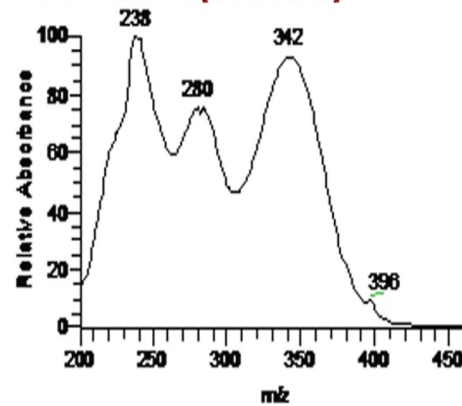
SK103-23_27404_posnegESI_FT #2551-2627 RT: 15.38 AV: 1
F: FTMS + c ESI d Full ms 2 345.26 @cid35.00 [85.00-360.00]



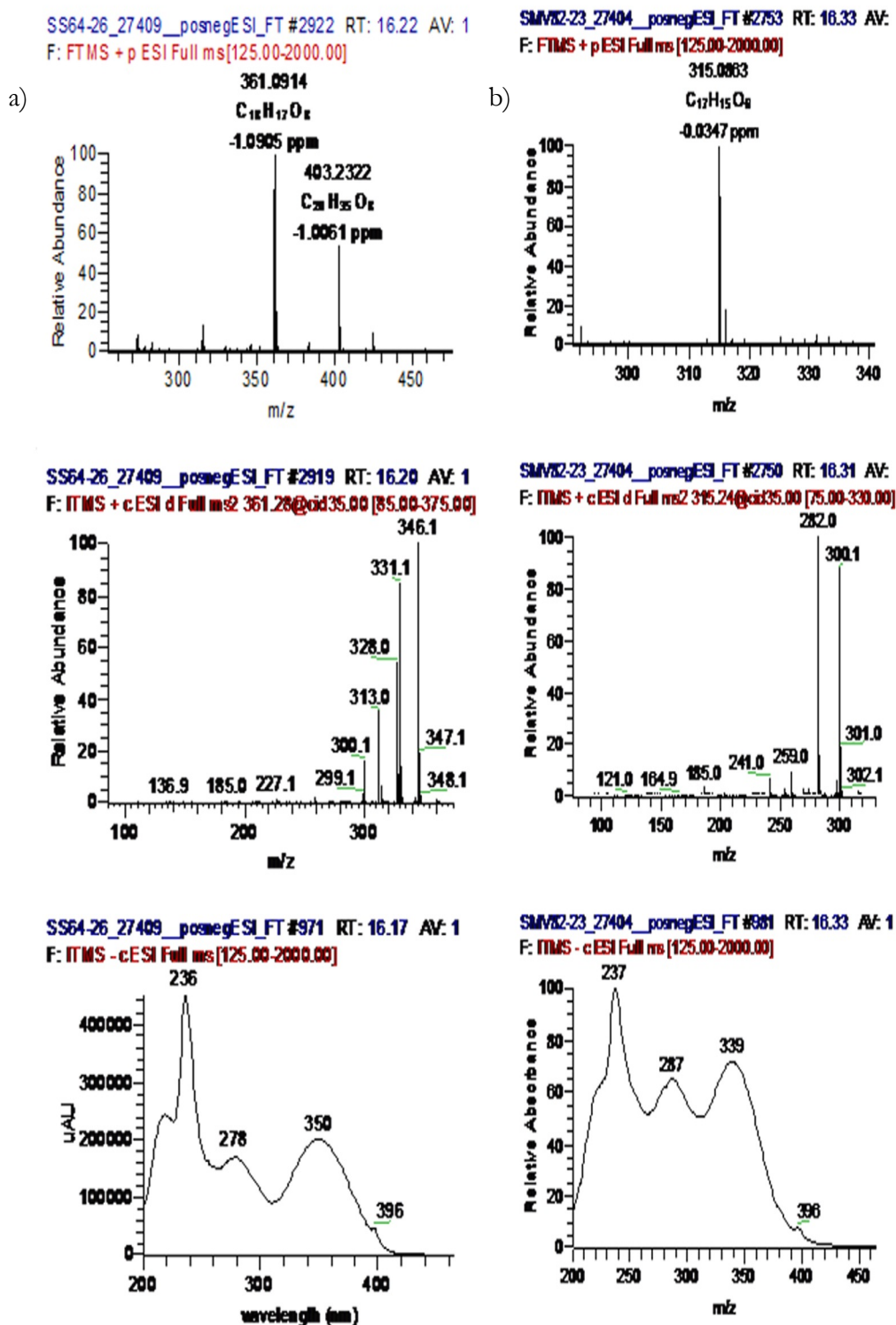
SK103-02_27407_posnegESI_FT #905 RT: 15.07 AV: 1
F: FTMS - c ESI Full ms [125.00-2000.00]



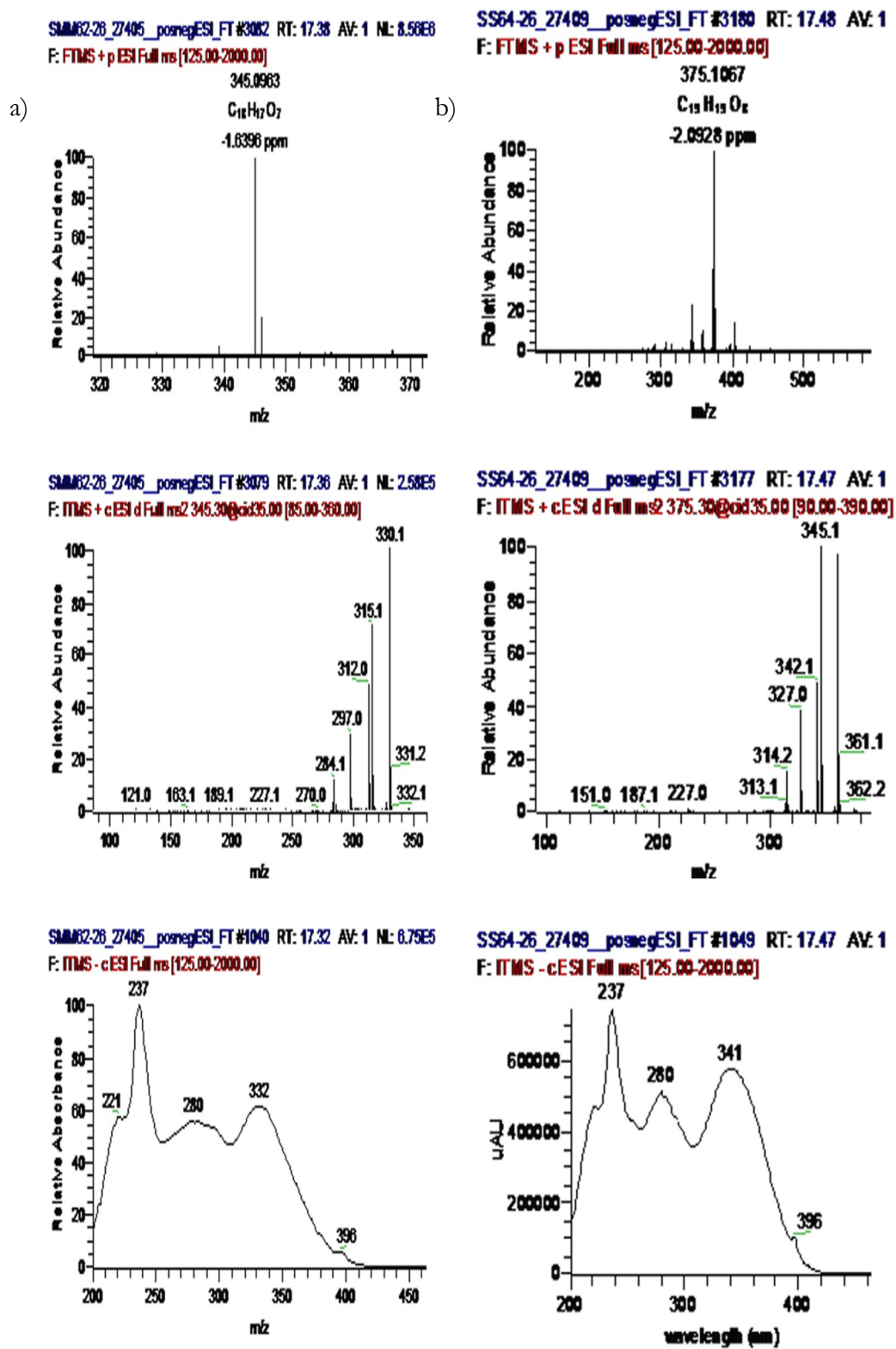
SK103-23_27404_posnegESI_FT #924 RT: 15.38 AV: 1
F: FTMS - c ESI Full ms [125.00-2000.00]



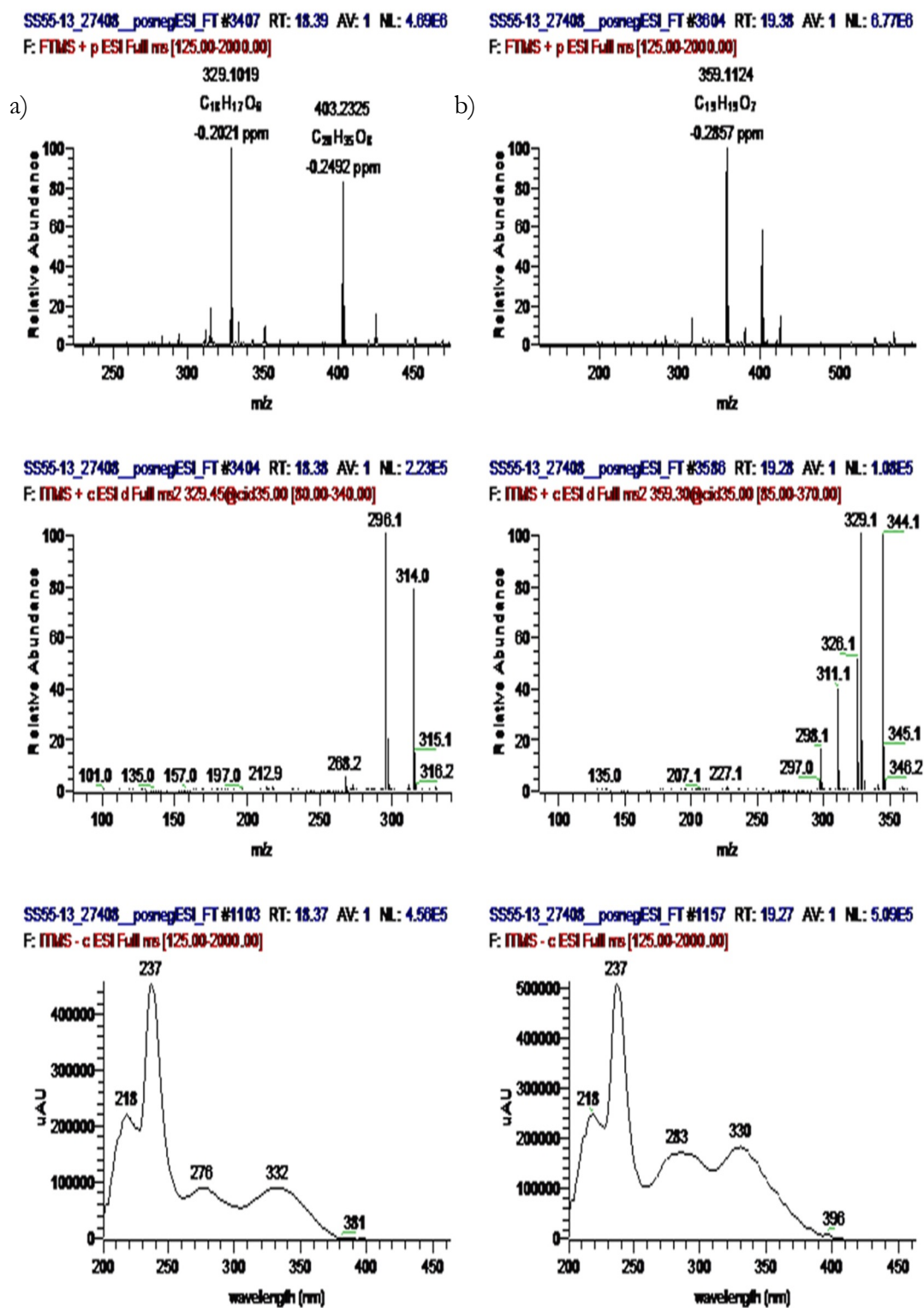
Prilog B3. LC-MS hromatogrami i UV i MS spektri pojedinačnih flavonoida izolovanih sa površine listova proučavanih taksona roda *Satureja*; a) 8-metoksicirziliol; b) cirzimaritin



Prilog B4. LC-MS hromatogrami i UV i MS spektri pojedinačnih flavonoida izolovanih sa površine listova proučavanih taksona roda *Satureja*; a) ksantomikrol; b) 8-metoksicirzilneol

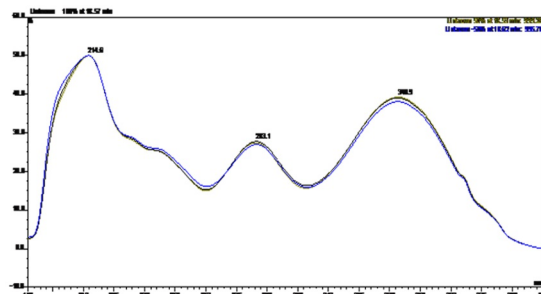


Prilog B5. LC-MS hromatogrami i UV i MS spektri pojedinačnih flavonoida izolovanih sa površine listova proučavanih taksona roda *Satureja*; a) salvigenin; b) gardenin B

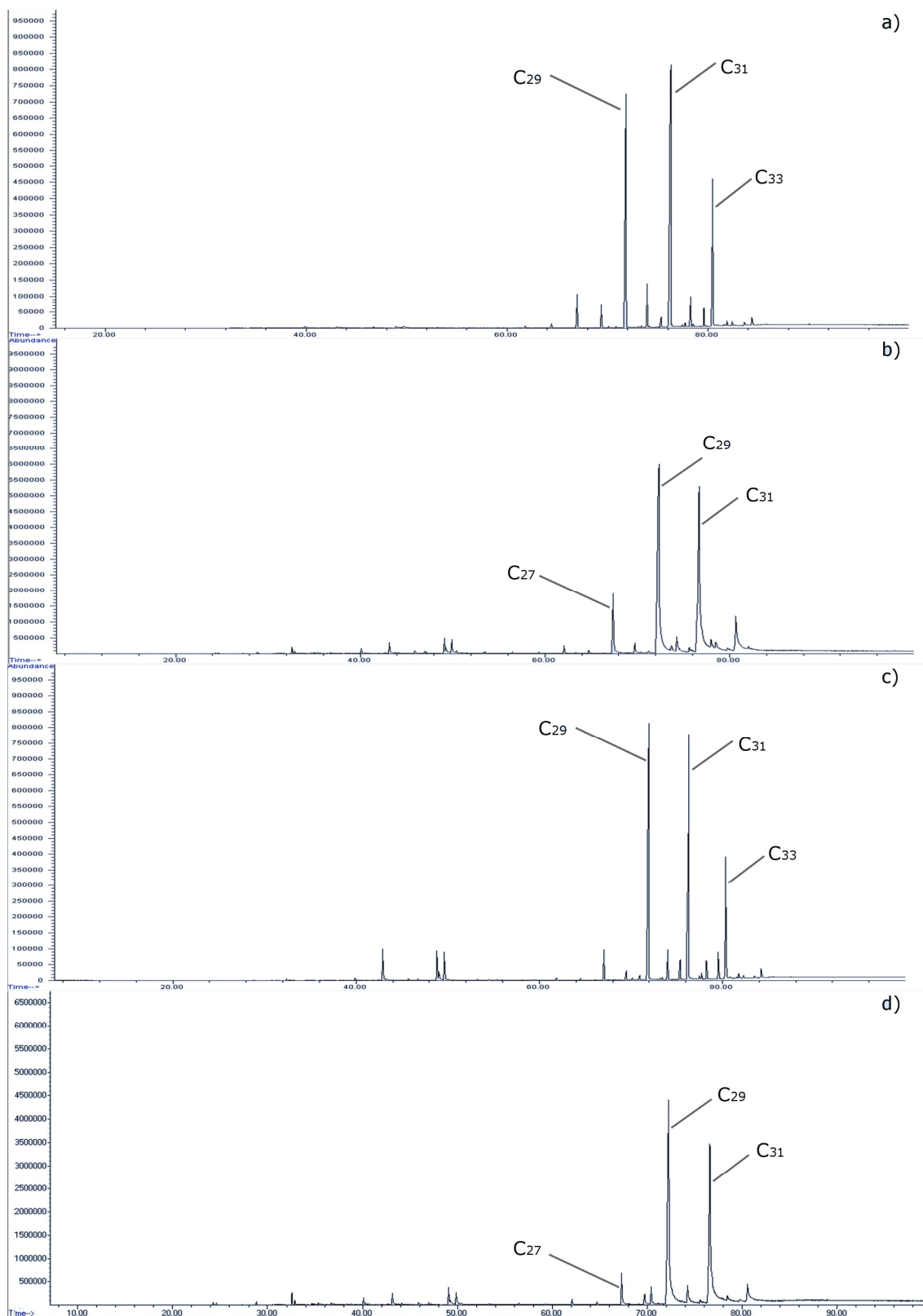


Prilog B6. UV spektar flavonoida izolovanog sa površine listova proučavanih taksona roda *Satureja*,

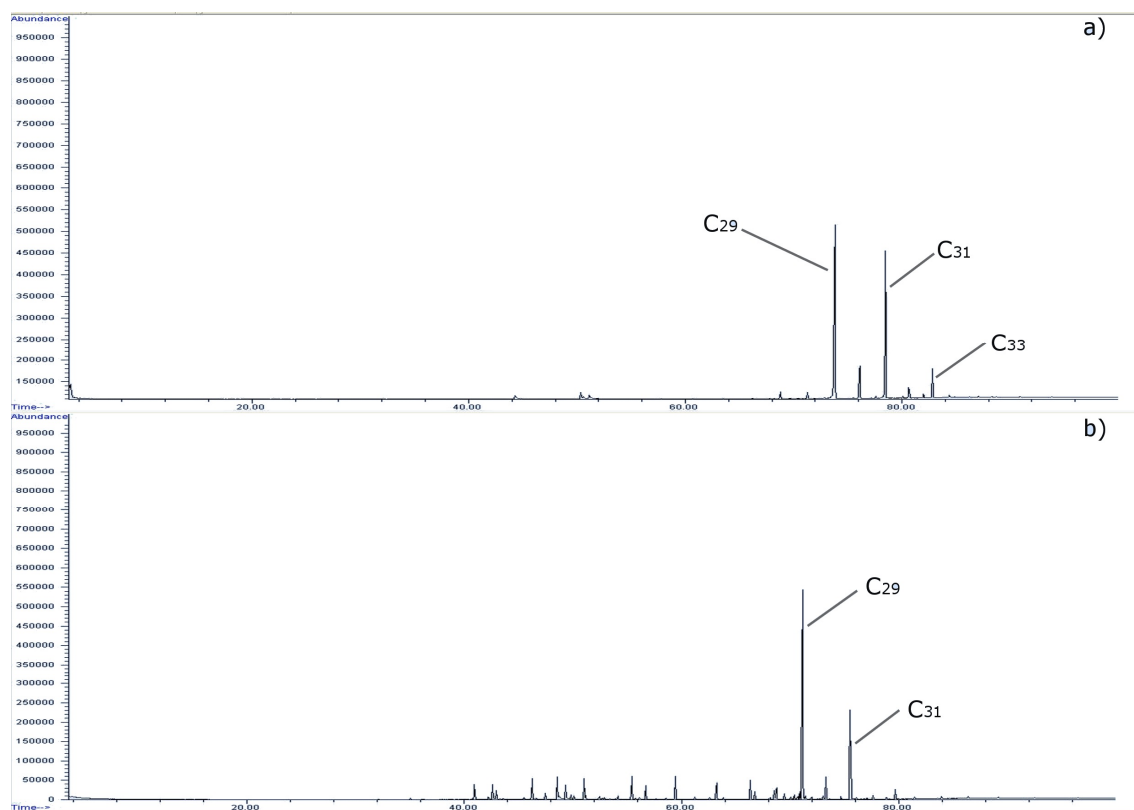
neidentifikovano jedinjenje



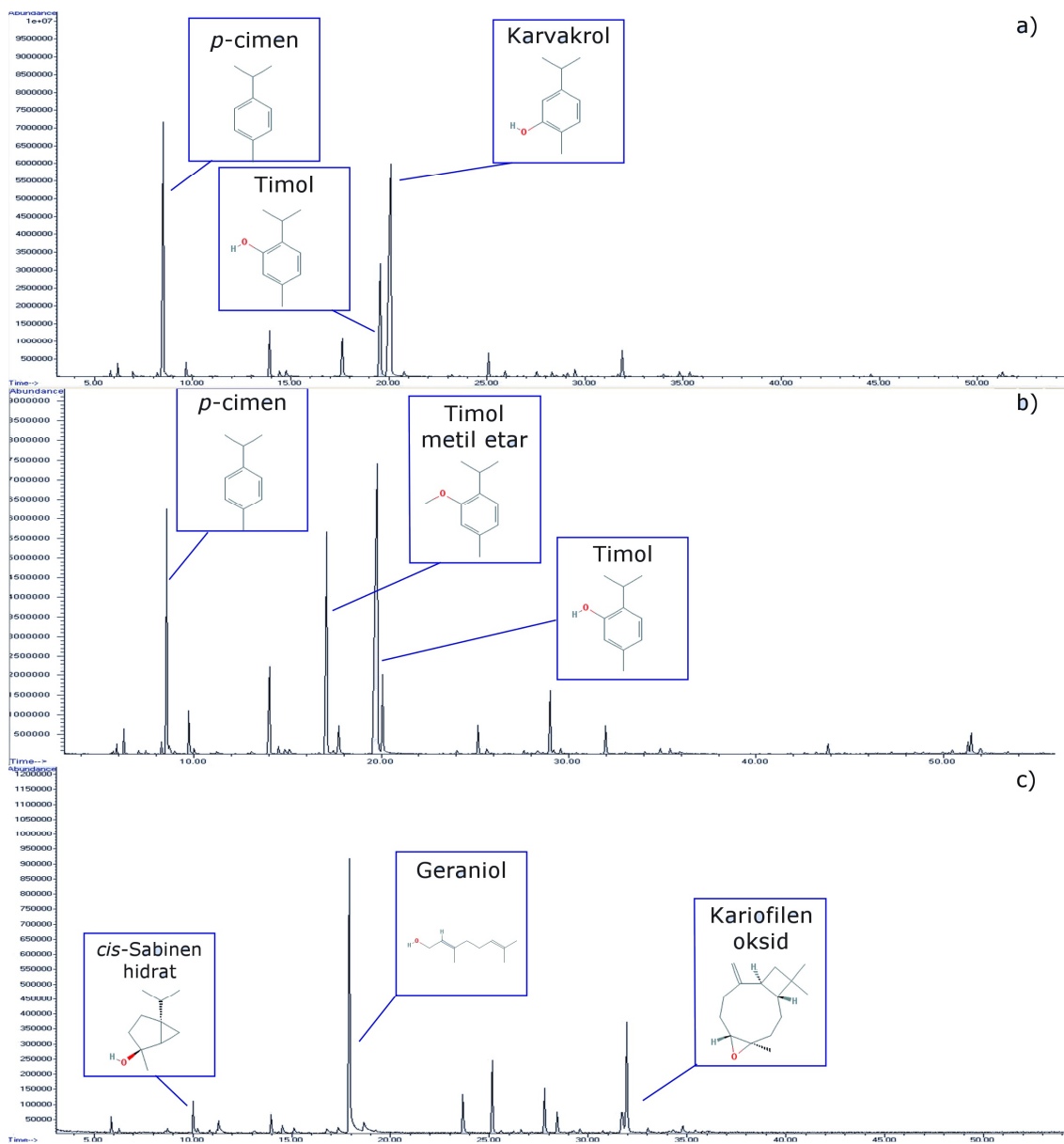
Prilog C1. GC-FID hromatogrami epikutikularnih *n*-alkana izolovanih sa površine listova proučavanih taksona roda *Satureja*; a) *S. montana* ssp. *variegata* (Krk); b) *S. montana* ssp. *montana* (Gacko); c) *S. montana* ssp. *pisidica* (Galičica); d) *S. kitaibelii* (Đerdap)



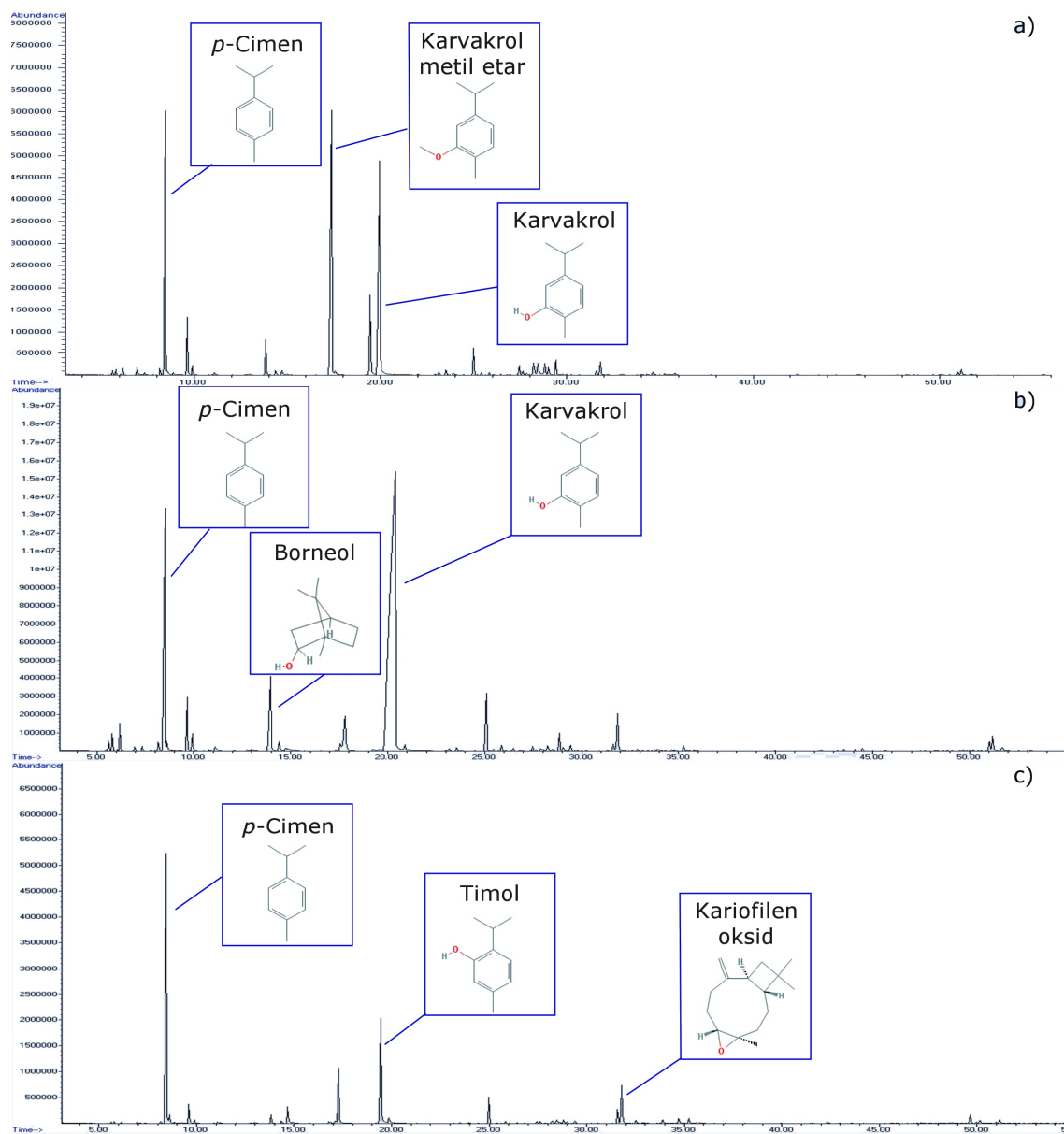
Prilog C2. GC-FID hromatogrami epikutikularnih *n*-alkana izolovanih sa površine listova proučavanih taksona roda *Satureja*; a) *S. subspicata* ssp. *liburnica* (Zlobin); b) *S. subspicata* ssp. *subspicata* (Crkvice)



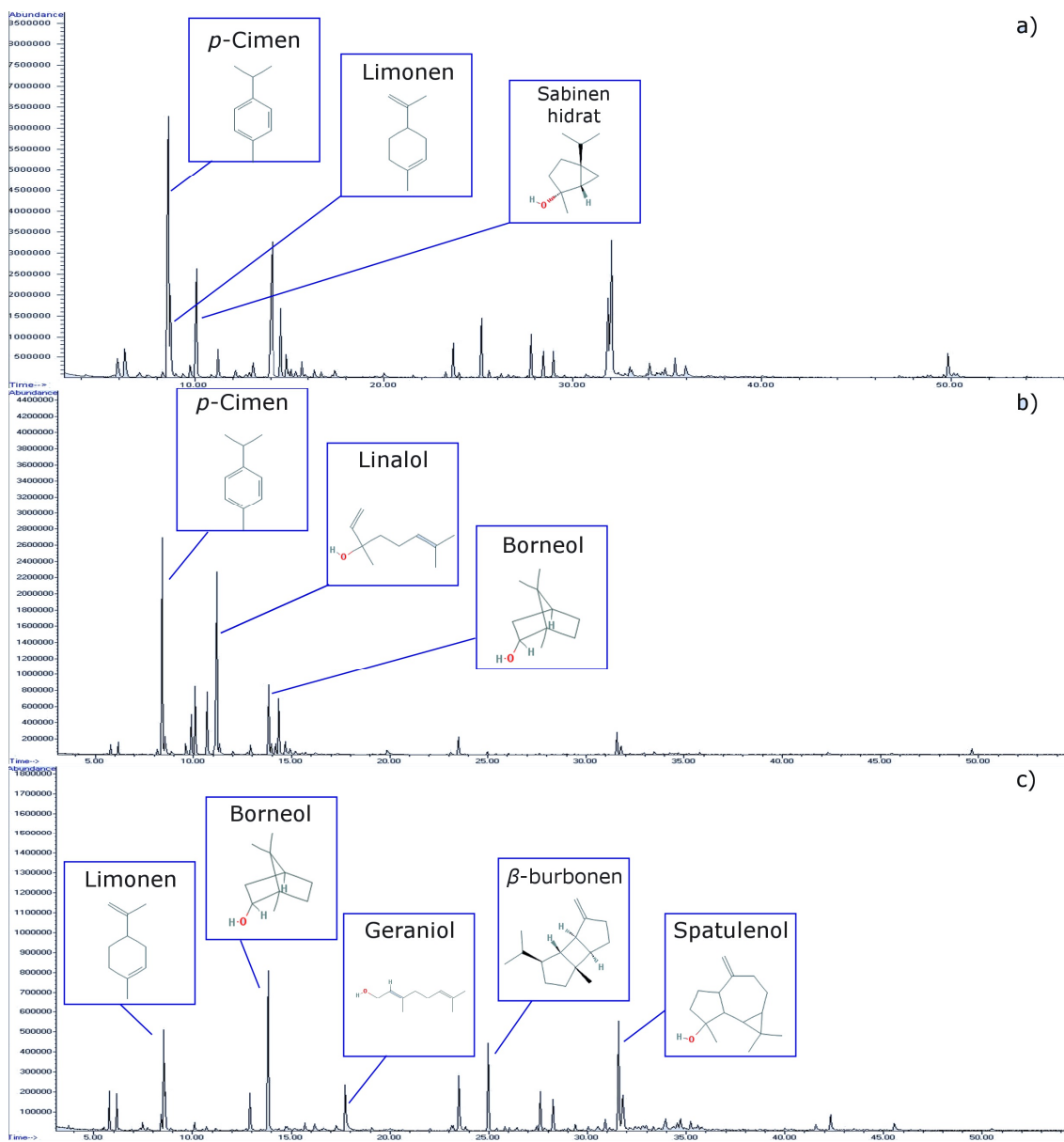
Prilog D1. GC-FID hromatogram etarskog ulja nadzemnog dela *S. montana* ssp. *montana*; a) Jadranovo; b) Makarska; c) Gacko



Prilog D2. GC-FID hromatogram etarskog ulja nadzemnog dela odabranih takosna *S. montana*: *S. montana* ssp. *variegata*: a) Bovec; b) Divača i *S. montana* ssp. *pisidica*: c) Galičica

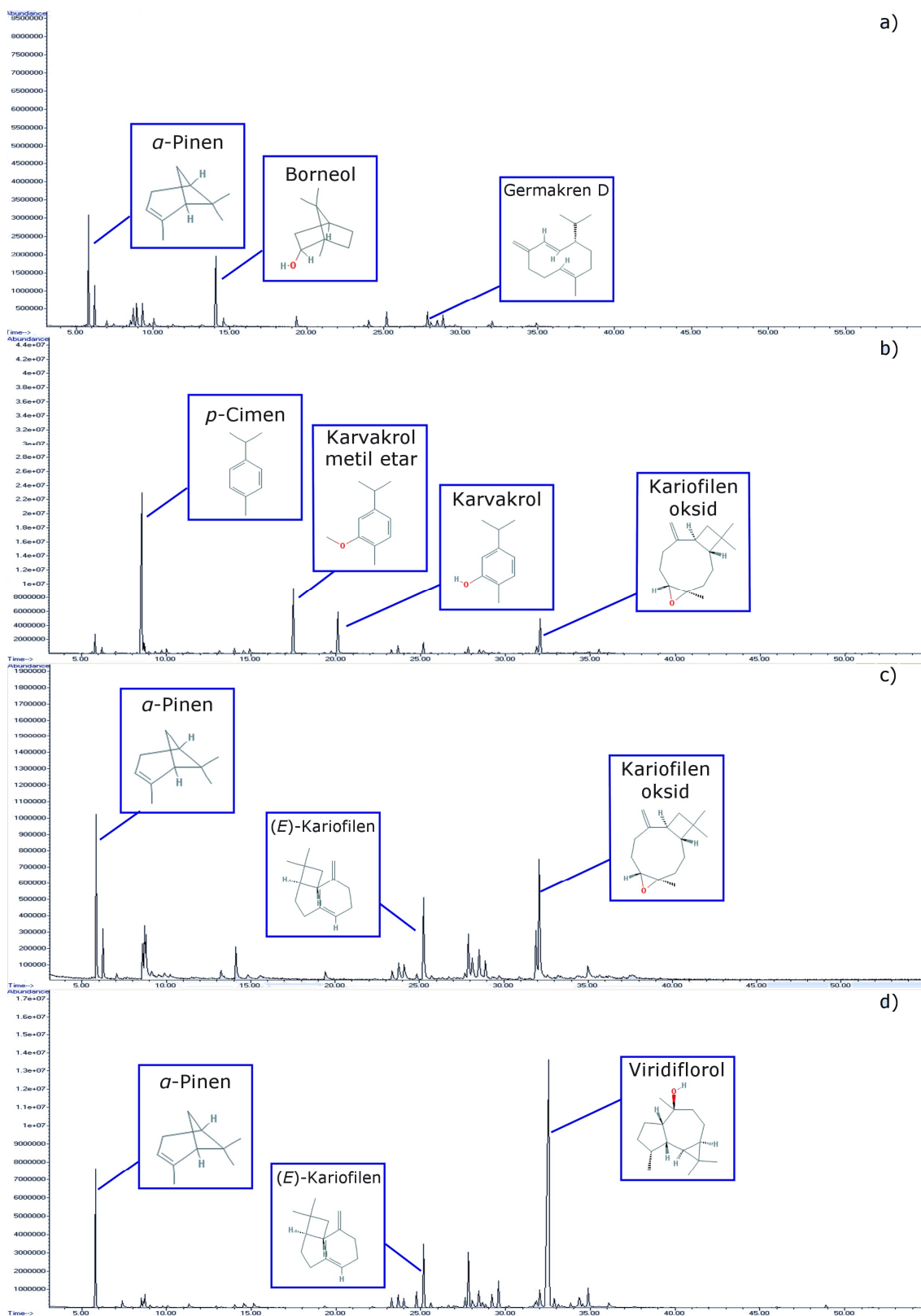


Prilog D3. GC-FID hromatogram etarskog ulja nadzemnog dela *S. kitaibelii*: a) Đerdap; b) Poganovo; c) Temšica



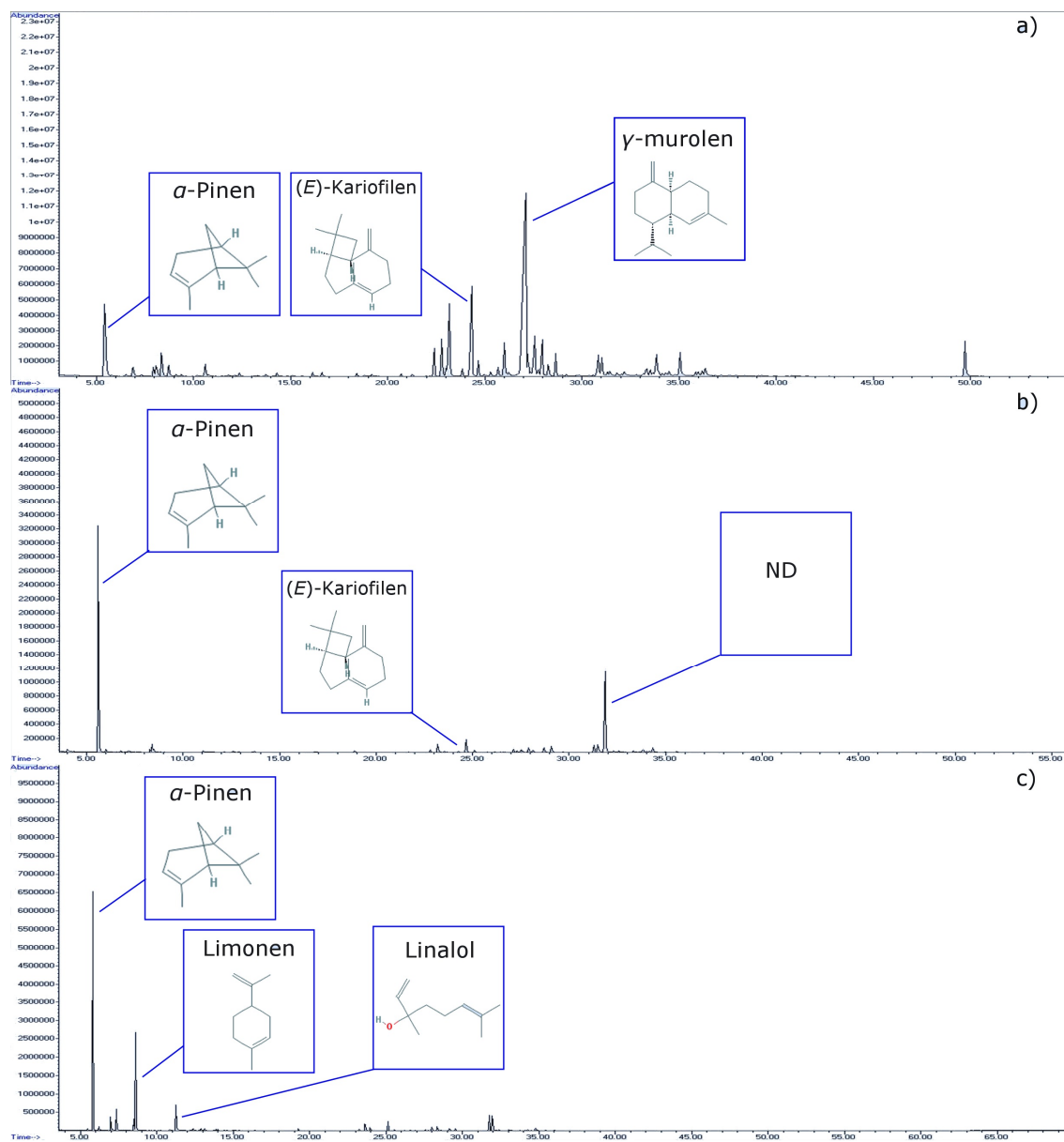
Prilog D4. GC-FID hromatogram etarskog ulja nadzemnog dela *S. subspicata* ssp. *liburnica*:

a) Jadranovo; b) Zlobin; c) Velebit; d) Đevrske



Prilog D5. GC-FID hromatogram etarskog ulja nadzemnog dela *S. subspicata* ssp. *subspicata*:

a) Gacko; b) Orjen; c) Crkvice



BIOGRAFIJA AUTORA

Tanja Z. Dodoš je rođena 05. septembra 1982. godine u Beogradu. Osnovnu školu završila je u Jakovu a srednju školu “Tehnička škola Novi Beograd” na Novom Beogradu. Diplomirala je na Biološkom fakultet Univerziteta u Beogradu 2009. godine. Diplomski rad pod naslovom “Građa za floru Buljarica” uradila je na Katedri za ekologiju i geografiju biljaka, pod rukovodstvom dr Dmitra Lakušića i odbranila ocenom 10.

Školske 2010/11 godine upisala je doktorske studije na Biološkom fakultetu, modul Eksperimentalna i primenjena botanika, koji organizuje Katedra za morfologiju i sistematiku biljaka. Od 2009 do 2011. radi kao vodič u Botaničkoj bašti „Jevremovac“. Od aprila 2011. radi na Katedri za Morfologiju i sistematiku biljaka kao istraživač-pripravnik na projektu br. 173029 „Mikromorfološka, fitohemijska i molekularna istraživanja biljaka – sistematski, ekološki i primenljivi aspekti“. Takođe, uključena je u praktični deo nastave na predmetima „Sistematika i filogenija biljaka“ (OA-BE8), „Biohemijska i molekularna sistematika biljaka“ (OA-B2) i „Uporedna morfologija i sistematika biljaka“ (OA-M5) koji organizuje Katedra za morfologiju i sistematiku biljaka. U periodu od 2011 do 2014 kao predstavnik Katedre je učestvovala u organizaciji i opremanju molekularne laboratorije na Institutu za Botaniku u Botaničkoj bašti „Jevremovac“.

Tokom dosadašnjeg rada bila je autor tri rada i koautor sedam naučnih radova u časopisima sa SCI liste. Učestvovala je na većem broju međunarodnih i nacionalnih skupova.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора **Тања З. Додош**

Број индекса **Б3050/2010**

Изјављујем

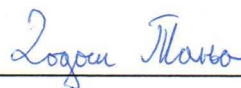
да је докторска дисертација под насловом

**Фитохемијска и морфолошка диференцијација природних популација
Satureja montana L., *S. kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. и *S. subspicata* Bartl. ex Vis.
(Lamiaceae)**

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 25.07.2018.



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора **Тања З. Додош**

Број индекса **Б3050/2010**

Студијски програм **Експериментална и примењена ботаника**

Наслов рада **Фитохемијска и морфолошка диференцијација природних популација *Satureja montana* L., *S. kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. и *S. subspicata* Bartl. ex Vis. (Lamiaceae)**

Ментор **др Петар Д. Марин**

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 25.07.2018.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

**Фитохемијска и морфолошка диференцијација природних популација
Satureja montana L., *S. kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. и *S. subspicata* Bartl. ex Vis.
(Lamiaceae)**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

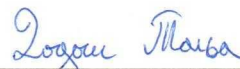
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 25.07.2018.



1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.